

**POSITIV INOTROPE STIMULATION
UND KONTRAKTILE RESERVE
DES ISOLIERTEN MENSCHLICHEN
MYOKARDS BEI HERZINSUFFIZIENZ**

Michael Näbauer

Aus der Medizinischen Klinik I der Universität München

Klinikum Großhadern

Vorstand: Prof. Dr. med. G. Riecker

POSITIV INOTROPE STIMULATION UND KONTRAKTILE RESERVE DES

ISOLIERTEN MENSCHLICHEN MYOKARDS BEI HERZINSUFFIZIENZ

Dissertation

zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin

an der Medizinischen Fakultät der

Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Michael Näbauer

aus

München

1986

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. E. Erdmann

Mitberichterstatter: Prof. Dr. med. G. Riecker
Prof. Dr. Dr. H. Goerke

Mitbetreuung durch den
promovierten Mitarbeiter: Dr. L. Brown

Dekan: Prof. Dr. med. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 4. Dezember 1986

MEINEN ELTERN

UND TONI

INHALTSVERZEICHNIS

1. EINLEITUNG	1
2. MATERIALIEN UND METHODEN	9
2.1. Materialien	9
2.2. Methoden	10
2.2.1. Isolierter, elektrisch stimulierter, rechtsventrikulärer Papillarmuskel des Meerschweinchens	10
2.2.2. Isolierter, elektrisch stimulierter, menschlicher Papillarmuskelstreifen	11
2.2.2.1. Papillarmuskel aus Mitral- klappenersatz-Operationen	11
2.2.2.2. Papillarmuskel terminal insuffizienter Herzen	14
2.2.3. Statistische Auswertung der Ergebnisse	15
3. ERGEBNISSE	16
3.1. Effektivität positiv inotroper Substanzen im rechtsventrikulären Papillarmuskel des Meerschweinchens	16
3.2. Effektivität positiv inotroper Substanzen mit Einfluß auf das zelluläre c-AMP-System in menschlichen Papillarmuskelstreifen	17

3.3. Positiv inotrope Wirkung von Bay K 8644 in	19
menschlichen Papillarmuskelstreifen	

4. DISKUSSION 31

4.1. Kontraktile Reserve von isoliertem, terminal	31
insuffizienten, menschlichen Myokard in vitro	
4.2. Reduzierte Effektivität c-AMP-abhängiger	34
inotroper Stimulation in terminal insuffizientem,	
menschlichen Myokard	
4.3. Mögliche Veränderungen des Inotropie-gekoppelten	37
c-AMP-Systems in insuffizientem, menschlichen	
Myokard	
4.4. Mögliche Ursachen der verminderten	41
Ansprechbarkeit insuffizienten, menschlichen	
Myokards auf positiv inotrope Stimulation	
4.5. Mögliche pathophysiologische Auswirkungen der	45
inotropen Katecholamin-Subsensitivität	
insuffizienten Myokards	
4.6. Reduzierte positiv inotrope Wirksamkeit des	47
Kalzium-Kanal-Aktivators Bay K 8644 in	
insuffizientem, menschlichen Myokard	
4.7. Inotrope Katecholamin-Unterempfindlichkeit und	49
reduzierte inotrope Wirksamkeit von Bay K 8644	
in insuffizientem, menschlichen Myokard:	
Pathophysiologisch gekoppelte Prozesse ?	
4.8. Sind Tiermodelle zur Beurteilung der	50
Wirksamkeit positiv inotroper Substanzen im	
Patienten mit Herzinsuffizienz geeignet ?	

5. ZUSAMMENFASSUNG	52
6. LITERATURVERZEICHNIS	55
7. LEBENSLAUF	69

1. EINLEITUNG

Wesentliches Kennzeichen der kongestiven Herzinsuffizienz ist das Versagen einer ausreichenden myokardialen Pumpfunktion mit nachfolgender Minderperfusion der Organe (82). Eine Vielzahl von Untersuchungen in Tiermodellen und menschlichem Myokardgewebe über Ursachen und Mechanismen des Abfalls der Kontraktionskraft hat strukturelle und biochemische Veränderungen in nahezu allen zellulären Funktionseinheiten aufgezeigt (31,75), einschließlich sarkolemmaler (6,22) und sarkoplasmatischer Membransysteme (96,101), Mitochondrien (96) und kontraktilem Apparat (4,49). Eine besondere und möglicherweise sogar primäre Bedeutung im pathophysiologischen Geschehen der Herzinsuffizienz scheint dabei jedoch den Funktionen zuzukommen, die an der Regulation des zellulären Kalziummetabolismus beteiligt sind (10). Wesentlichen Anteil an der Regulation des zellulären Kalziumeinstroms haben zwei in der Zellmembran lokalisierte Systeme, der spannungsabhängige Kalziumkanal (67) und die Adenylat-Zyklase, die diesen über die Synthese des intrazellulären Messengers c-AMP moduliert (Abb. 1; (85,89,99)). Durch Aktivierung jedes der beiden Systeme läßt sich eine Zunahme des transsarkolemmalen Kalziumeinstroms bewirken und damit, durch erhöhte Verfügbarkeit von freiem intrazellulärem Kalzium während der Kontraktion, ein positiv inotroper Effekt (Abb. 1; (89,93)). Das Ausmaß der so erzielbaren positiv inotropen Wirkung läßt im Falle von Veränderungen umgekehrt Rückschlüsse auf die funktionelle Integrität dieser Systeme zu.

Die Bestandteile des Adenylat-Zyklase-Systems der Zellmembran, das die positiv inotrope Wirkung der Katecholamine

Abb. 1:

HISTAMIN

GLUKAGON

DOBUTAMIN

NORADRENALIN

AZETYLCHOLIN

ISOPROTERENOL FORSKOLIN ADENOSIN

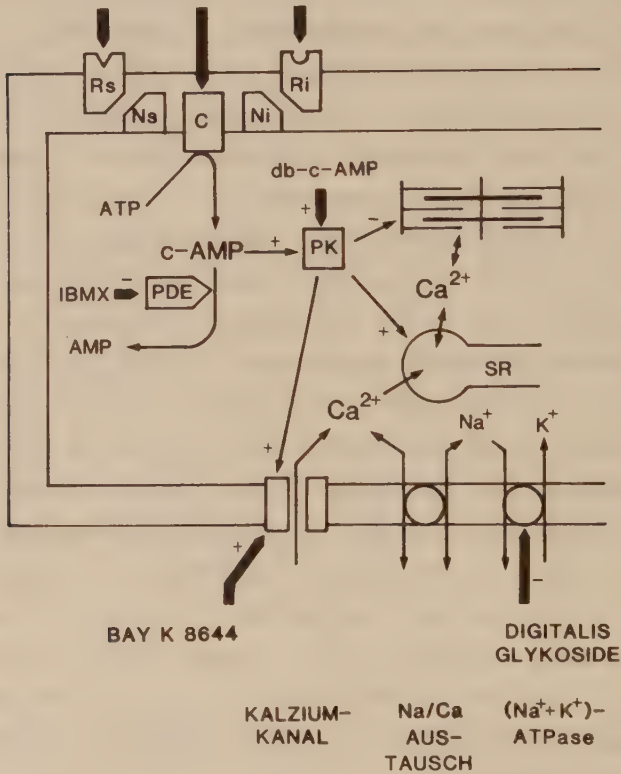


Abb. 1:

Einflußgrößen der Kalziumhomöostase in menschlichen, ventrikulären Herzmuskelzellen und Prinzipien positiver Inotropie. Intrazelluläres Kalzium als Aktivators substanz der kontraktiven Filamente und der intrazelluläre c-AMP-Spiegel als Regulator des Kalziumeinstroms spielen dabei zentrale Rollen. R_s (stimulierend gekoppelter Rezeptor), R_i (inhibitorisch gekoppelter Rezeptor), N_s (stimulatorisches Guanin-Nukleotid-bindendes Protein), N_i (inhibitorisches Guanin-Nukleotid-bindendes Protein) und C (katalytische Untereinheit) bilden das membranständige Adenylat-Zyklase-System, dessen Aktivität zusammen mit dem c-AMP-Abbau durch Phosphodiesterasen (PDE) die intrazellulären c-AMP-Spiegel bestimmt. Die c-AMP-bedingte Aktivierung von Proteinkinasen (PK) setzt dann positiv inotrope Mechanismen in Gang, zu denen insbesondere ein vermehrter Kalziumeinstrom durch sarkolemmale Kalziumkanäle und ein gesteigerter Kalziumtransport des sarkoplasmatischen Retikulums (SR) gehören. Nicht berücksichtigt sind α -Adrenozeptor-abhängige positiv inotrope Prozesse. (Nach 60,82,89)

vermittelt, konnten in den letzten Jahren definiert werden (43,85). Es besteht im wesentlichen aus drei Untereinheiten, dem β -Adrenozeptor, einem Guanin-Nukleotid-bindenden Protein (N_s oder G_s) und einer davon in ihrer Aktivität regulierten enzymatischen Einheit, die die Synthese von c-AMP aus ATP katalysiert (Abb. 1; (43)); c-AMP fungiert dann als intrazellulärer Messenger mit zellspezifischer Funktion (72); im Myokard steht für c-AMP die Aktivierung positiv inotroper Mechanismen im Vordergrund. Stimulierende Wirkung auf die Adenylat-Zyklase haben in menschlichem Ventrikelmyokard außer Katecholaminen (vor allem Noradrenalin und Adrenalin; über β_1 - und β_2 -Adrenozeptoren (14,21)) noch Histamin (über H_2 -Rezeptoren (35,53)) und Glukagon (über Glukagon-Rezeptoren (47)). Dieser stimulierenden steht eine antagonistische Funktion gegenüber, zusammengesetzt aus einem inhibitorischen Guanin-Nukleotid-bindenden Protein (N_i oder G_i) mit hemmender Wirkung auf die c-AMP Syntheserate und entsprechend inhibitorisch wirkenden Membranrezeptoren, - im Myokard die Rezeptoren für Azetylcholin und Adenosin (43,92). Von Guanin-Nukleotid-bindenden Proteinen vermittelte stimulierende und inhibitorische Einflüsse regulieren somit über die Aktivität der katalytischen Einheit der Adenylat-Zyklase die Syntheserate von c-AMP, dessen intrazelluläre Akkumulation positiv inotrope Mechanismen aktiviert (84,89,108). Allerdings scheint dieses einfache Modell der Adenylat-Zyklase nicht in jeder Hinsicht experimentellen Befunden zu genügen, sodaß möglicherweise Interaktionen zwischen stimulatorischen und inhibitorischen Komponenten oberhalb der katalytischen Untereinheit für die Regulation der Aktivität der Adenylat-Zyklase von Bedeutung sind (63).

Der Synthese von c-AMP durch die Adenylat-Zyklase steht der Abbau des intrazellulären c-AMPs durch spezifische Phosphodiesterasen gegenüber. c-AMP-Synthese und -Abbau stehen somit in einem dynamischen Gleichgewicht, wobei die relative Aktivität der beiden Prozesse die intrazellulären c-AMP-Spiegel bestimmt (7). So führen Hemmstoffe der Phosphodiesterasen (z.B. IBMX (3-Isobutyl-1-Methyl-Xanthin); (112)) ebenfalls zu intrazellulärer c-AMP Akkumulation mit nachfolgender Induktion c-AMP-abhängiger positiv inotroper Mechanismen (34,89,91).

Während eine Stimulation der Herzkraft durch Katecholamine für die basale Kontraktionsleistung des Herzens unter Ruhebedingungen wahrscheinlich nicht notwendig ist (97), spielt die Aktivierung des sympathischen Nervensystems eine wichtige Rolle in der Anpassung der Herzleistung an die Erfordernisse des Kreislaufs unter Belastung (75,97). Die hohen Spiegel zirkulierenden Noradrenalins herzinsuffizienter Patienten legen darüberhinaus die Vermutung nahe, daß die Aktivierung des sympathischen Nervensystems mit noradrenerger Stimulation der Kontraktilität einen wesentlichen Kompensationsmechanismus zur Aufrechterhaltung der Pumpleistung bei Herzinsuffizienz darstellt, zumindest am Anfang (13,46, 75). Kontinuierliche Katecholamin-Exposition führt jedoch, wie in einer Reihe von experimentellen Modellen gezeigt werden konnte, zu zellulären Prozessen der Desensitivierung mit Abnahme der intrazellulären c-AMP-Akkumulation auf erneute Stimulation mit Katecholaminen (94). Auch menschliches Myokard scheint im Rahmen der Herzinsuffizienz eine verminderte Ansprechbarkeit auf Katecholamine zu entwickeln. Dies zeigt der inotrope Wirkungsverlust von therapeutisch über längere Zeit verabreichten Katecholaminen (27,109) oder

die reduzierte Katecholaminempfindlichkeit bei schweren Graden der Herzinsuffizienz (9,28). Die Korrelation der hohen basalen Noradrenalin-Konzentrationen im Plasma von Patienten mit Herzinsuffizienz mit einer reduzierten Stimulierbarkeit von cAMP-Produktion (105) und Kontraktilität (28) durch Isoproterenol legt eine Verknüpfung im Sinne Katecholamin-induzierter Desensitivierungsprozesse nahe. Gesichert ist jedoch ein solcher Zusammenhang nicht (11,99, 105,114), zumal in tierexperimentellen Untersuchungen eine inotrope Subsensitivität auf Katecholamine auch in nicht katecholamin-induzierter Myokardhypertrophie und auch ohne erkennbare Erhöhung des Plasma-Noradrenalins beobachtet werden konnte (55,76).

Bisherige Untersuchungen in insuffizientem, menschlichen Myokard schreiben die verminderte inotrope Stimulierbarkeit Veränderungen auf Rezeptorebene zu und machen eine Abnahme der Dichte der β -Adrenozeptoren (8,12,13) sowie funktionelle Abkopplungsprozesse des β -Adrenozeptors verantwortlich (48). Sind isolierte Veränderungen des β -Adrenozeptors für die inotrope Subsensitivität auf Katecholamine verantwortlich, dann sollten andere positiv inotrope Substanzen, die intrazelluläres c-AMP unter Umgehung dieses Defekts zu erhöhen vermögen, nicht von inotroper Subsensitivität betroffen sein (94). Zur weiteren Analyse der Veränderungen des menschlichen c-AMP-Systems im Rahmen der Herzinsuffizienz befaßt sich die vorliegende Arbeit mit der pharmakologischen Stimulierbarkeit positiv inotroper Mechanismen in insuffizientem, menschlichen Myokard durch Substanzen mit unterschiedlichen Angriffspunkten im zellulären c-AMP-Metabolismus, einschließlich rezeptorvermittelter (Dobutamin, Histamin) und rezeptorunabhängiger (IBMX, db-c-AMP, Forskolin) Mecha-

nismen. Darüberhinaus schließt die Untersuchung den spannungsgesteuerten, sarkolemmlen Kalziumkanal mit ein, der selbst grundlegende Bedeutung in der myokardialen Kontraktilität besitzt (67) und dessen c-AMP-vermittelte Aktivierung einen wesentlichen Faktor Katecholamin-induzierter positiver Inotropie darstellt (84,89).

Über physiologische und pathophysiologische Veränderungen des sarkolemmlen Kalziumkanals ist bislang wenig bekannt. Erst durch die Entwicklung selektiver, radioaktiv markierter Liganden konnte er in den letzten Jahren näheren biochemischen Untersuchungen unterzogen werden (45). Wesentliche Verbesserungen der elektrophysiologischen Techniken erlauben nun auch eine ausreichende Isolierung des transsarkolemmlen Kalziumstroms (50). Ein entscheidender Durchbruch für die funktionelle Charakterisierung des Kalziumkanals war darüberhinaus die Entdeckung von Substanzen, die eine selektive, c-AMP-unabhängige Aktivierung der spannungsabhängigen Kalziumkanäle der Zellmembran bewirken, wie die Nifedipin-Abkömmlinge Bay K 8644 und CGP 28 392 (80,93). Im Gegensatz zu den bereits therapeutisch angewandten Kalziumantagonisten, die den transsarkolemmlen Kalziumstrom hemmen und vasodilatatorisch und negativ inotrop wirken, steigern diese Substanzen den Kalziumstrom in die Zelle und haben damit vasokonstriktorische und positiv inotrope Eigenschaften (39,57,93). Eine direkte Aktivierung myokardialer Kalziumkanäle erlaubt möglicherweise auch eine therapeutisch nutzbare Steigerung der Kontraktilität insuffizienten Myokards, unabhängig von bisher bekannten Mechanismen positiver Inotropie wie Katecholaminen, Hemmung der Phosphodiesterase oder Digitalis Glykosiden. Deshalb wurde die inotrope Wirksamkeit von Bay K 8644, einem c-AMP-unabhängi-

gen, direkten Aktivator des spannungsabhängigen Kalziumkanals, in menschlichem Myokard - Papillarmuskelstreifen von Patienten, die sich wegen nicht mehr ausreichender Herzleistung einer Mitralklappenersatz-Operation oder einer Herztransplantation unterziehen mußten - in die Untersuchungen miteinbezogen.

Da menschliches Myokard stets von Patienten mit eingeschränkter Herzfunktion stammt und gesundes, menschliches Myokard für Kontrolluntersuchungen somit nicht verfügbar ist, wurde der isolierte, rechtsventrikuläre Papillarmuskel des Meerschweinchens als Vergleichsmodell zur Beurteilung der Effektivität der verschiedenen positiv inotropen Substanzen in gesundem Myokard herangezogen.

2. MATERIALIEN UND METHODEN

2.1. Materialien

Dobutamin wurde von Eli Lilly GmbH, Gießen, Bay K 8644 (Methyl-1,4-Dihydro-2,6-Dimethyl-3-Nitro-4-(2-Trifluoromethylphenyl)-Pyridine-5-Carboxylat) von Bayer, Wuppertal, freudlicherweise zur Verfügung gestellt. IBMX (3-Isobutyl-1-Methyl-Xanthin), db-c-AMP (Dibutyryl-zyklisches-Adenosin-Monophosphat), Forskolin, Histamin und g-Strophanthin wurden von Sigma GmbH, München, bezogen. Alle verwendeten Chemikalien waren von analytischem Reinheitsgrad und stammten von Merck, Darmstadt, oder Boehringer, Mannheim. Die Stammlösungen von Bay K 8644, Forskolin und IBMX wurden in Dimethylformamid (DMF) hergestellt; der Anteil an DMF in der Badelösung überstieg 0.7 % (v/v) nicht. Die Stammlösungen aller anderen Substanzen wurden mit entionisiertem Wasser angefertigt. Die Fütterung der Meerschweinchen erfolgte mit Meerschweinchen-Standard-Diät (Altromin, Lage/Lippe) und Leitungswasser ad libitum.

2.2. Methoden

2.2.1. Isolierter, elektrisch stimulierter, rechtsventrikulärer Papillarmuskel des Meerschweinchens

Meerschweinchen (beiderlei Geschlechts, 6 - 8 Wochen alt) wurden durch Genickschlag getötet und aus den Karotiden entblutet. Nach sofortiger Entnahme des Herzens wurden die rechtsventrikulären Papillarmuskeln freipräpariert und vertikal in einem zweikammerigen Organbad aufgehängt, mit einem Ende fixiert, das andere mit einem Kraftaufnehmer verbunden. Die Vorlast wurde so eingestellt, daß die entwickelte Kontraktionskraft einen maximalen Wert erreichte und während des gesamten Experiments beibehalten. Das Organbad (75 ml Inhalt) enthielt kontinuierlich mit Carbogen (95 % O_2 , 5 % CO_2) begaste Tyrode-Lösung mit folgender Zusammensetzung (in mmol/l): NaCl, 136.9; KCl, 5.4; $MgCl_2$, 1.05; $CaCl_2$, 1.8; $NaHCO_3$, 22.6; NaH_2PO_4 , 0.42; Glukose, 5.5; Ascorbinsäure, 0.28; Na_2 -EDTA, 0.05. Die Temperatur der Badelösung wurde konstant auf 35° C gehalten. Die elektrische Stimulation der Muskeln erfolgte durch zwei Platinelektroden mittels Feldstimulation; als Reizgerät diente ein Grass S88 Stimulator (Grass-Instruments, Quincy, Mass., U.S.A.; Reizfrequenz, 1 Hz; Reizstrom 10-20 % über der Reizschwelle; Reizdauer, 5 ms). Die vom Muskel entwickelte Kraft wurde isometrisch mit Hilfe eines induktiven Kraftaufnehmers (BB Elektronik, Laichingen) gemessen und kontinuierlich registriert (Hellige 5-Kanal-Schreiber, Hellige, Freiburg; Gould 2400 4-Kanal-Schreiber, Gould-Instruments, Cleveland, Ohio, U.S.A.). Die Äquilibrierungszeit der Muskeln vor Zugabe von Substanzen betrug mindestens 80 Minuten; in dieser Zeit wurde die Badelösung einmal erneuert. Die Konzen-

trations-Wirkungs-Kurven wurden durch kumulative Zugabe der positiv inotropen Substanzen ermittelt; die nächsthöhere Konzentration wurde nach Stabilisierung des Effekts der vorangegangenen Konzentration zugegeben. Jeder Muskel wurde nur für eine Konzentrations-Wirkungs-Kurve verwendet.

2.2.2. Isolierter, elektrisch stimulierter, menschlicher Papillarmuskelstreifen

2.2.2.1. Papillarmuskel aus Mitralklappenersatz-Operationen

Papillarmuskeln des linken Ventrikels wurden intraoperativ von Patienten erhalten, die sich einer Mitralklappenersatz-Operation unterziehen mußten. Bei allen 29 Patienten lag eine chronische Erkrankung der Mitralklappe vor mit allmählicher Entwicklung der Beschwerden über Jahre. 21 der Patienten waren Frauen, 8 Männer; das Alter der Patienten lag zwischen 36 und 73 Jahren, im Mittel 55.6 ± 5.4 Jahre. Die präoperative Einschränkung der Herzfunktion entsprach Grad II bis IV der Klassifizierung der New York Heart Association (NYHA). Die histologische Untersuchung des entnommenen Papillarmuskelgewebes ergab unterschiedliche Grade der interstitiellen Fibrose. Die Vorbehandlung der Patienten bestand aus Digoxin oder anderen Digitalisderivaten, Diuretika und Nitraten; keiner der Patienten hatte Kalziumantagonisten innerhalb 7 Tagen vor der Operation erhalten. Ein Patient stand unter langfristiger Therapie mit β -Adrenozeptor-Antagonisten (Metoprolol, 100 mg/Tag). Für die Narkose wurden Flunitrazepam, Fentanyl und Pancuroniumbromid mit Halothan oder Enfluran verwendet. Die Mitralklappenersatz-Operation wurde in kardioplegischem Herz-

stillstand unter Verwendung der Herz-Lungen-Maschine durchgeführt. Als kardioplegische Lösung diente die Lösung nach Bretschneider mit folgender Zusammensetzung (in mmol/l): NaCl, 15; KCl, 10; MgCl₂, 4; Histidin-HCl, 18; Histidin, 18; Tryptophan, 2; Mannitol, 30; Kalium-Dihydrogen-Oxoglutarat, 1. Sofort nach Entnahme wurde das Papillarmuskelstück in kalter, mit Carbogen angereicherter Tyrode-Lösung ins Labor transportiert und dort möglichst parallel zum Faserverlauf in ca. 1 mm dicke, 6-9 mm lange Streifen geschnitten (Durchschnittsfeuchtgewicht 5.6 ± 0.18 mg, n = 87). Makroskopisch erkennbar stark fibrosiertes Gewebe wurde nach Möglichkeit vermieden.

Die Papillarmuskelstreifen wurden im Organbad aufgehängt wie oben für die Meerschweinchenpapillarmuskel beschrieben (2.2.1.); die Vorlast wurde so eingestellt, daß die Kontraktionskraft des jeweiligen Muskelstreifens einen maximalen Wert erreichte. Diese Vorspannung wurde über das gesamte Experiment beibehalten. Jeder Konzentrations-Wirkungs-Kurve liegen experimentelle Daten von wenigstens vier Patienten zugrunde, um die unvermeidbaren interindividuellen Unterschiede zwischen den Patienten zu minimieren. In jedem Papillarmuskelstreifen wurde zunächst eine Konzentrations-Wirkungs-Kurve für die jeweilige positiv inotrope Substanz erstellt. Daran abschließend wurde diese Substanz durch 3-4 maliges Spülen mit Tyrode-Lösung über mindestens 60 Minuten bis zum völligen Verschwinden des positiv inotropen Effekts ausgewaschen. Nach Abwarten einer erneuten, stabilen Ausgangskraft wurde durch Zugabe von CaCl₂ eine Konzentrations-Wirkungs-Kurve für Kalzium bestimmt mit den Schritten: 1.8, 2.4, 3.2, 4.0, 5.6, 7.2, 9.0, 12.0, 15.0 mmol/l.

Bei der Bestimmung der positiv inotropen Wirkung von Dobutamin vor und nach Inkubation mit Bay K 8644 wurde folgendermaßen vorgegangen: Zunächst wurde der Papillarmuskelstreifen steigenden Konzentrationen an Dobutamin ausgesetzt bis zum Erreichen eines maximalen Effekts. Daraufhin wurde Dobutamin mehrfach bis zum Verschwinden des positiv inotropen Effekts ausgewaschen und die erneute Stabilisation der Kontraktionskraft abgewartet. Nach Zugabe von Bay K 8644 und Erreichen einer stabilen Kontraktionsamplitude wurde die Konzentrations-Wirkungs-Kurve für Dobutamin wiederholt. Da der positiv inotrope Effekt von Bay K 8644 auch durch vielfaches Waschen mit Tyrode-Lösung über längere Zeit (bis zu 210 Minuten) nicht vollständig reversibel war, wurde die im jeweiligen Muskelstreifen maximal erreichbare Kontraktionskraft durch schrittweise Zugabe von CaCl_2 zur maximal wirksamen Konzentration von Bay K 8644 ohne vorheriges Auswaschen bestimmt.

Die Länge der Muskelstreifen wurde jeweils am Ende des Experiments unter Beibehaltung der Vorspannung gemessen. Die Querschnittsfläche der Muskelstreifen, errechnet aus Feuchtwicht und Länge des Muskelstreifens unter der Annahme eines spezifischen Gewichts von 1 mg/mm^3 und einer zylindrischen Geometrie des Muskelstreifens (23), betrug im Durchschnitt $0.73 \pm 0.03 \text{ mm}^2$. Zur Bestimmung des Feuchtwichts wurden die Muskelstreifen nach Ende des Experiments mit Filterpapier vorsichtig trockengetupft und unmittelbar anschließend gewogen.

2.2.2.2. Papillarmuskel terminal insuffizienter Herzen

Papillarmuskeln terminal insuffizienter Herzen wurden intraoperativ von 17 Patienten erhalten, die sich wegen konservativ nicht mehr beherrschbarer Herzinsuffizienz einer Herztransplantation unterziehen mußten. 16 der Patienten waren Männer. Die präoperativen Diagnosen waren dilatative Kardiomyopathie in 13, und koronare Herzkrankheit in 3 Fällen. Eine Patientin erhielt ein Herz-Lungen-Transplantat wegen pulmonaler Hypertonie infolge eines persistierenden offenen Ductus Botalli. Der klinische Zustand der Patienten entsprach Grad IV der New York Heart Association (NYHA); die präoperativ durchgeführte Herzkatheteruntersuchung ergab eine Auswurffraktion von $18.9 \pm 1.7 \%$ (Mittelwert $\pm$ SEM), einen linksventrikulären, enddiastolischen Druck von 23.4 ± 1.7 mmHg und einen kardialen Index von 1.94 ± 0.16 l/min/m². Die histologische Untersuchung des Myokards zeigte unterschiedliche Grade myozytärer Hypertrophie und interstitieller Fibrose in allen Fällen. Keiner der Patienten hatte Katecholamine oder Kalziumantagonisten innerhalb von 7 Tagen vor der Operation erhalten. Die präoperative Therapie der Patienten bestand in Digoxin und anderen Digitalisderivaten, Diuretika und die kardiale Nachlast senkenden Medikamenten. In der perioperativen Anästhesie kamen Flunitrazepam, Fentanyl und Pancuroniumbromid mit Halothan oder Enfluran zur Anwendung. Unmittelbar nach elektrischer Induktion von Kammerflimmern wurde das insuffiziente Herz reseziert, linksventrikuläre Papillarmuskeln entnommen und in kalter (4° C), mit Carbogen vorbe-gaster Tyrode-Lösung ins Labor transportiert. Die Zeit von Beginn des kardiopulmonalen Bypass' bis zur Verarbeitung im Labor war stets kürzer als 10 Minuten. Die Präparation

dieser Papillarmuskelstreifen war identisch zu der aus Mitralklappenersatz-Operationen erhaltenen Papillarmuskeln. Die Länge der Muskelstreifen betrug 6-9 mm bei einem errechneten Durchschnittsfeuchtgewicht von 5.77 ± 0.19 mg; n = 80) und einer errechneten durchschnittlichen Querschnittsfläche von 0.78 ± 0.03 mm².

2.2.3. Statistische Auswertung der Ergebnisse

Die Ergebnisse sind angegeben als Mittelwert $\pm$ Standardfehler des Mittelwerts (SEM). Die statistische Signifikanz wurde mit Hilfe des t-Tests ermittelt; ein Wert für p kleiner 0.05 wurde als signifikant angesehen.

3. ERGEBNISSE

3.1. Effektivität positiv inotroper Substanzen im rechtsventrikulären Papillarmuskel des Meerschweinchens

Abb. 2 zeigt die kumulativ ermittelten Konzentrations-Wirkungs-Kurven von positiv inotropen Substanzen mit verschiedenem Wirkungsmechanismus im rechtsventrikulären Papillarmuskel des Meerschweinchens. Folgende Substanzen, angegeben mit ihrem wahrscheinlichen Angriffspunkt und inotropen Wirkungsmechanismus (Abb. 1;(89,93)), wurden untersucht:

Isoproterenol: intrazelluläre c-AMP-Akkumulation durch β -Adrenoceptor vermittelte Stimulation der Adenylat-Zyklase (89,99)

Dobutamin: wie Isoproterenol; die Stimulation myokardialer α_1 -Rezeptoren spielt in der positiv inotropen Wirkung wahrscheinlich nur eine untergeordnete Rolle (21)

Histamin: intrazelluläre c-AMP-Akkumulation durch H_2 -Rezeptor vermittelte Stimulation der Adenylat-Zyklase (35,53)

IBMX: intrazelluläre c-AMP-Akkumulation durch Hemmung der Phosphodiesterase (89,91)

g-Strophanthin: intrazellulärer Na^+ -Anstieg durch Hemmung der $(Na^+ + K^+)$ -ATPase mit nachfolgendem Ca^{2+} -Einstrom (3)

Bay K 8644: direkte Aktivierung des sarkolemmlen, spannungs-spannungsabhängigen Kalziumkanals (37,57)

Erhöhung der extrazellulären Kalziumkonzentration: vermehrter transsarkolemmler Ca^{2+} -Einstrom und Anstieg der diastolischen intrazellulären Kalziumkonzentration (36,83)

Dabei ist die maximale Kontraktionskraftzunahme bei allen

untersuchten Substanzen trotz der verschiedener Wirkungsmechanismen nahezu gleich groß wie die durch Erhöhung der extrazellulären Kalziumkonzentration (Abb.2;(18)). Die durch Bay K 8644 erreichbare Zunahme der Kontraktionskraft ist allenfalls geringgradig weniger.

3.2. Effektivität positiv inotroper Substanzen mit Einfluß auf das zelluläre c-AMP-System in menschlichen Papillarmuskelstreifen

In Papillarmuskelstreifen terminal insuffizienter Herzen von Patienten, die sich einer Herztransplantation unterziehen mußten, war der positiv inotrope Effekt (gemessen als Zunahme der Kontraktionskraft pro Muskelquerschnittsfläche) derjenigen Substanzen, die über eine rezeptorvermittelte Stimulation der Adenylat-Zyklase wirken, ebenso wie der Effekt von IBMX mit weniger als 2 mN/mm^2 deutlich geringer als der durch Erhöhung der extrazellulären Kalziumkonzentration ($8.2 \pm 0.84 \text{ mN/mm}^2$; Abb. 3). Hemmung der ($\text{Na}^+ + \text{K}^+$)-ATPase durch g-Strophanthin hingegen führte zu einer vergleichbaren Kontraktionskraftzunahme wie Kalzium (Abb. 3,4). Die Untersuchung des positiv inotropen Effekts von db-c-AMP, einem membranpermeablen, extrazellulär angewandt wirksamen c-AMP-Analog, das zelluläre, c-AMP-abhängige positiv inotrope Mechanismen unter Umgehung der Adenylat-Zyklase zu aktivieren vermag (69,74), zeigte eine Zunahme der Kontraktionskraft im gleichen Umfang ($7.3 \pm 1.4 \text{ mN/mm}^2$) wie die durch Erhöhung des extrazellulären Kalziums oder durch g-Strophanthin. Auch der maximale positiv inotrope Effekt von Forskolin, das die Adenylat-Zyklase direkt unter Umgehung sarkolemmaler Hormonrezeptoren aktiviert (30,70), war

dem durch Kalzium oder g-Strophanthin vergleichbar und betrug $6.8 \pm 1.1 \text{ mN/mm}^2$ (Abb. 3,4).

Normalisiert man den maximalen Effekt dieser positiv inotropen Substanzen an der in dem jeweiligen Papillarmuskelstreifen durch Erhöhung der extrazellulären Kalziumkonzentration erzielbaren Kontraktionskraftzunahme, so läßt sich die geringe positiv inotrope Effektivität von Dobutamin, Histamin, und IBMX in terminal insuffizientem Myokard deutlich darstellen; db-c-AMP, Forskolin und g-Strophanthin hatten hingegen eine vergleichbare positiv inotrope Effektivität wie Kalzium (Abb. 4).

Die inotrope Ansprechbarkeit auf Dobutamin erschien in Patienten mit terminaler Herzinsuffizienz aufgrund koronarer Herzkrankheit (0.8 mN/mm^2) oder dilativer Kardiomyopathie ($1.2 \pm 0.4 \text{ mN/mm}^2$) nicht wesentlich unterschiedlich; wegen der geringen Anzahl der Patienten mit koronarer Herzerkrankung ($n = 1$) ist diese Aussage jedoch nur unter Vorbehalt möglich.

Die durch eine maximal wirksame Konzentration von Histamin bewirkte Kontraktionskraftzunahme konnte durch Addition des Phosphodiesterase-Hemmstoffs IBMX auf das 4.2-fache (gleich 8.6 mN/mm^2) potenziert werden und erreichte damit den gleichen Umfang, der durch Erhöhung des extrazellulären Kalziums erreichbar war (Abb. 5). Dies steht im krassen Gegensatz zu den geringen Kraftzunahmen bei getrennter Zugabe beider Substanzen (Histamin, $1.9 \pm 0.4 \text{ mN/mm}^2$; IBMX, $1.16 \pm 0.3 \text{ mN/mm}^2$; siehe Abb. 3).

Eine Analyse der Abhängigkeit der maximalen Dobutamin-in-

duzierten Kontraktionskraftzunahme in Papillarmuskelstreifen eines Patienten (normiert an der jeweiligen maximalen Kraftzunahme auf Kalzium) von der präoperativen, linksventrikulären Funktion dieses Patienten zeigte eine signifikante Korrelation zum linksventrikulären, enddiastolischen Füllungsdruck (Abb. 6; $r = -0.78$; $p < 0.01$; $n = 12$) und zur linksventrikulären Auswurffraktion ($r = 0.73$; $p < 0.01$; $n = 11$). Eine Unterteilung der Patienten nach den Diagnosen Mitralstenose und Mitralinsuffizienz, die ja mit unterschiedlicher Belastung des linken Ventrikels einhergehen, zeigte ebenfalls die Abnahme des positiv inotropen Effekts von Dobutamin mit der steigender Ventrikelbeanspruchung bei Mitralinsuffizienz mit einem weiteren Abfall in terminal insuffizientem Myokard von Herztransplantat-Empfängern (Abb. 6a und b). Auch die Kraftzunahmen auf Histamin und IBMX zeigten bei Auftrennung nach den präoperativen Diagnosen der Patienten eine signifikante Abnahme der Kontraktionskraftzunahme in terminal insuffizienten Myokard gegenüber Gewebe von Patienten, deren Mitralklappe ersetzt wurde, während die maximale Zunahme auf Erhöhung des extrazellulären Kalziums in beiden Patientenkollektiven nahezu gleichen Umfang hatte (Abb. 7). Eine Abhängigkeit der positiv inotropen Effektivität von Dobutamin vom Alter des jeweiligen Patienten konnte dagegen nicht beobachtet werden ($p = n.s.$).

3.3. Positiv inotrope Wirkung von Bay K 8644 in menschlichen Papillarmuskelstreifen

In Papillarmuskelstreifen von Patienten, deren Mitralklappe ersetzt wurde, bewirkte Bay K 8644 im Vergleich zur maximalen Wirkung von Kalzium eine Kontraktionskraftzunahme von 32 % ($2.7 \pm 0.5 \text{ mN/mm}^2$), während in terminal insuffizi-

entem Myokard von Patienten, die ein Herztransplantat erhielten, dieser Anteil weiter abgefallen war und nur noch 13 % erreicht wurden ($0.9 \pm 0.3 \text{ mN/mm}^2$; Abb. 8).

Die Analyse der Abhängigkeit der maximalen positiv inotropen Wirkung des Kalzium-Kanal-Aktivator Bay K 8644 in isolierten Papillarmuskelstreifen eines Patienten zur präoperativen linksventrikulären Funktion dieses Patienten ergab ebenfalls eine signifikante Korrelation zum linksventrikulären enddiastolischen Füllungsdruck (Abb. 9; $r = -0.77$; $p < 0.01$; $n = 12$) sowie zur linksventrikulären Auswurfraction ($r = 0.78$; $p < 0.01$; $n = 10$).

Den Einfluß von Bay K 8644 auf die positiv inotrope Wirkung von Dobutamin in menschlichen Papillarmuskelstreifen von Patienten, deren Mitralklappe ersetzt wurde, zeigt Abb. 10. Im jeweils selben Muskelstreifen wurde zunächst eine kumulative Konzentration-Wirkungs-Kurve für Dobutamin erstellt, danach Dobutamin ausgewaschen und, nach Vorinkubation mit Bay K 8644, die Konzentrations-Wirkungs-Kurve für Dobutamin wiederholt. Deutlich wird eine hinsichtlich der Summe der Einzelwirkungen (Dobutamin, $3.1 \pm 0.5 \text{ mN/mm}^2$; Bay K 8644, $3.0 \pm 0.4 \text{ mN/mm}^2$) überadditive Kraftentwicklung durch Dobutamin und Bay K 8644 zusammen ($8.5 \pm 1.2 \text{ mN/mm}^2$), und, daß die durch maximal effektive Konzentrationen von Bay K 8644 produzierte Kontraktionskraftzunahme durch Dobutamin weiter steigerbar war.

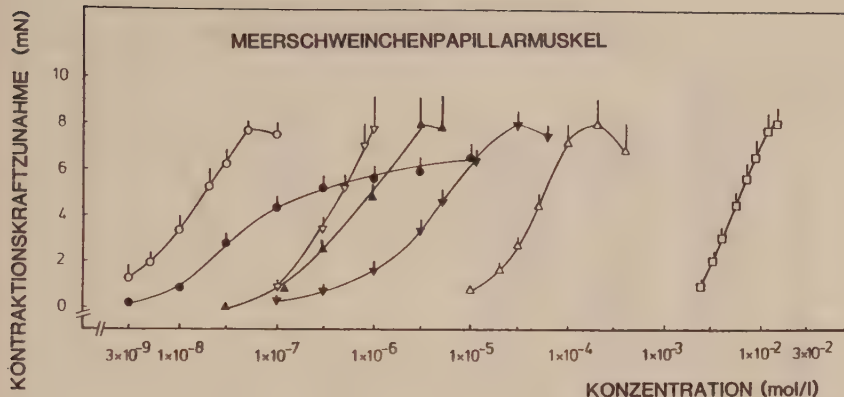


Abb. 2:

Positiv inotrope Wirkung von Substanzen mit verschiedenem Angriffspunkt im isolierten, rechtsventrikulären Papillarmuskel des Meerschweinchens.

		Ausgangs- kraft	maximale Kraft- zunahme	
Isoproterenol	(○)	2.2 ± 0.5 mN	7.6 ± 0.4 mN	n = 5
g-Strophanthin	(▽)	2.4 ± 0.6 mN	7.8 ± 1.4 mN	n = 6
IBMX	(△)	1.6 ± 0.4 mN	7.9 ± 1.2 mN	n = 5
Histamin	(▲)	1.8 ± 0.5 mN	7.9 ± 1.1 mN	n = 7
Dobutamin	(▼)	1.8 ± 0.3 mN	7.8 ± 1.6 mN	n = 5
Bay K 8644	(●)	1.5 ± 0.2 mN	6.6 ± 0.6 mN	n = 9
Kalzium	(□)	1.4 ± 0.2 mN	7.5 ± 0.8 mN	n = 13

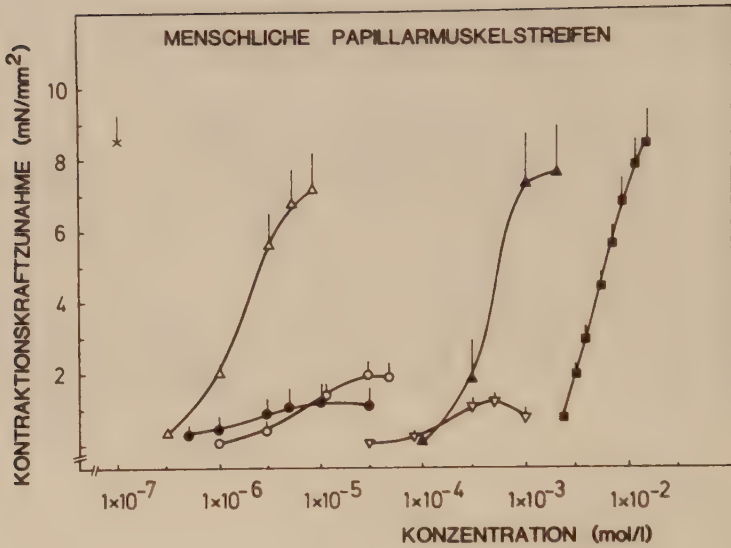


Abb. 3:

Effektivität positiv inotroper Substanzen mit unterschiedlichen Angriffspunkten im zellulären c-AMP-System in isolierten menschlichen Papillarmuskelstreifen von Patienten, die ein Herztransplantat erhielten.

	Ausgangs- kraft	maximale Kraft- zunahme
g-Strophanthin (x)	$1.0 \pm 0.2 \text{ mN/mm}^2$	$8.5 \pm 0.7 \text{ mN/mm}^2 \quad n=10$
Dobutamin (●)	$3.7 \pm 0.33 \text{ mN/mm}^2$	$1.17 \pm 0.5 \text{ mN/mm}^2 \quad n=10$
Histamin (○)	$4.0 \pm 0.4 \text{ mN/mm}^2$	$1.9 \pm 0.4 \text{ mN/mm}^2 \quad n=5$
IBMX (▽)	$4.0 \pm 0.3 \text{ mN/mm}^2$	$1.16 \pm 0.3 \text{ mN/mm}^2 \quad n=11$
Forskolin (△)	$4.1 \pm 0.45 \text{ mN/mm}^2$	$6.8 \pm 1.1 \text{ mN/mm}^2 \quad n=10$
db-c-AMP (▲)	$3.2 \pm 0.8 \text{ mN/mm}^2$	$7.3 \pm 1.4 \text{ mN/mm}^2 \quad n=5$
Kalzium (■)	$4.7 \pm 0.51 \text{ mN/mm}^2$	$8.2 \pm 0.84 \text{ mN/mm}^2 \quad n=4$

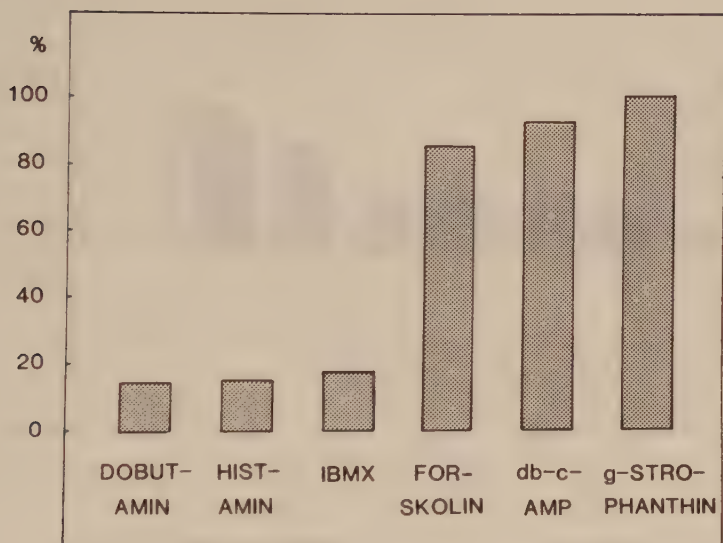


Abb. 4:

Effektivität von positiv inotropen Substanzen, die ihre Wirkung über das zelluläre c-AMP entwickeln, und von g-Strophanthin im Verhältnis zu der von Kalzium in Papillarmuskelstreifen terminal insuffizienter Herzen. Das Verhältnis der maximalen Zunahme der Kontraktionskraft durch die betreffende Substanz ist in Prozent zu der von Kalzium im selben Muskelstreifen angegeben. (n = 5-11)

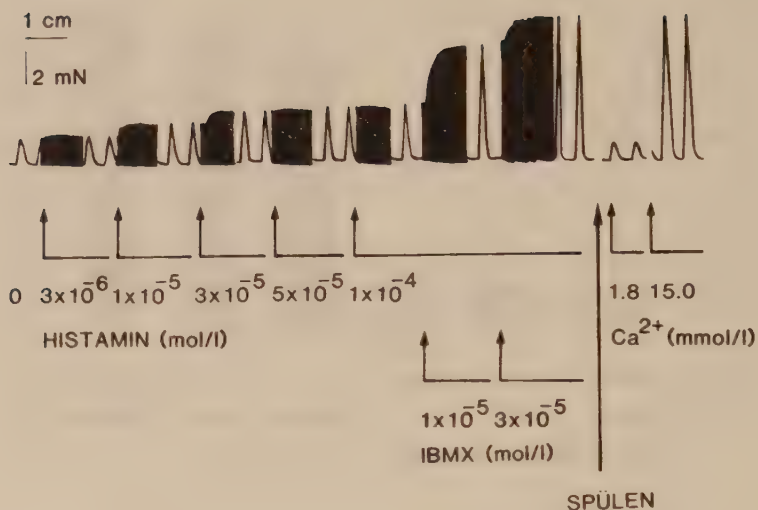


Abb. 5:

Originalregistrierung der potenzierenden Wirkung von IBMX auf maximale, Histamin-induzierte Inotropie in einem Papillarmuskelstreifen eines Patienten mit terminaler Herzinzuffizienz. Vor Zugabe von Kalzium wurden Histamin und IBMX durch Spülen mit substanzfreier Tyrode-Lösung ausgewaschen.

Schnelle Registriergeschwindigkeit: 0.5 cm/sec

Langsame Registriergeschwindigkeit: 0.1 cm/min

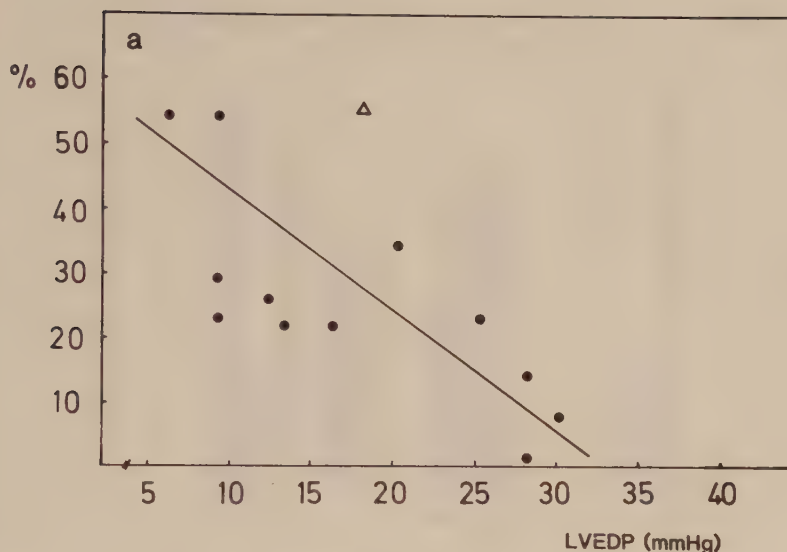


Abb. 6a:

Abhängigkeit der positiv inotropen Effektivität von Dobutamin in isolierten, menschlichen Papillarmuskelstreifen von der linksventrikulären Funktion des betreffenden Patienten, gemessen am linksventrikulären, enddiastolischen Druck (LVEDP). Die Kontraktionskraftzunahme auf Dobutamin ist angegeben in Prozent der maximalen Kontraktionskraftzunahme auf Kalzium im jeweils gleichen Muskelstreifen.

$n = 12$, $r = -0.74$, $p < 0.01$.

Ein Patient (Δ) stand unter chronischer Therapie mit β -Adrenozeptor-Antagonisten und weicht deutlich von der Korrelation ab. Die Daten dieses Patienten wurden bei der Ermittlung der Regressionsgeraden nicht mitberücksichtigt.

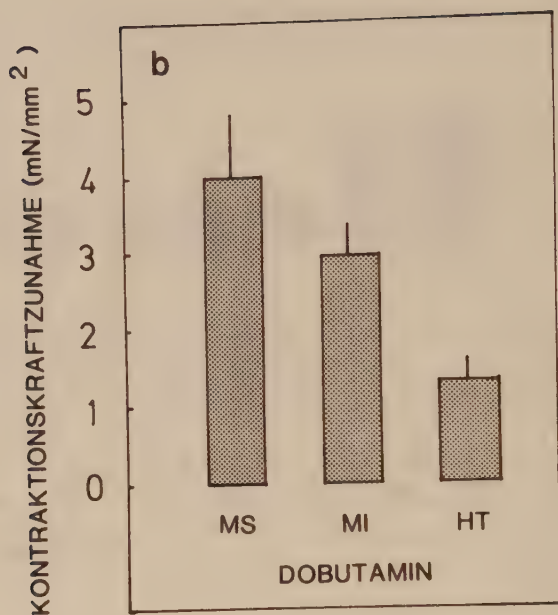


Abb. 6b:

Kontraktionskraftzunahme in menschlichen Papillarmuskelseifen bei Unterteilung der Patienten nach ihrer präoperativen Diagnose.

MS : reine Mitralstenose oder Mitralstenose mit Mitralinsuffizienz bis Grad I (n = 5).

MI : Mitralinsuffizienz ab Grad II einschließlich Aortenklappenvitien (n = 10).

HT : terminal insuffizientes Myokard von Herztransplantat-Empfängern (n = 5).

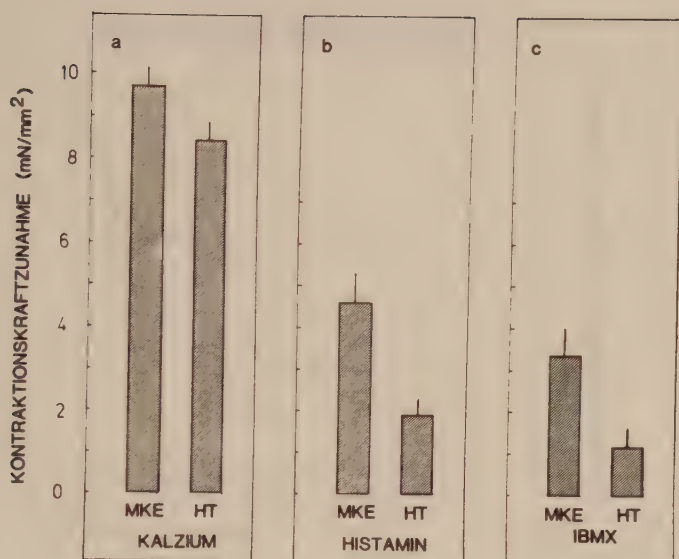


Abb. 7:

Kontraktionskraftzunahme auf Kalzium (a), Histamin (b) und IBMX (c) in Papillarmuskelstreifen, unterteilt nach Patienten mit Mitralfehler (MKE) und Patienten mit terminaler Herzinsuffizienz (HT). Während durch Histamin und IBMX in isoliertem Myokardgewebe von Patienten mit Mitralklappenfehler noch 46 bzw. 35 % der Kontraktionskraftzunahme auf Kalzium erreicht werden konnte, war in terminal insuffizientem Myokard in Vergleich zu Kalzium nur noch eine Zunahme von maximal 20 bzw 18 % erzielbar. (n = 4 - 11)

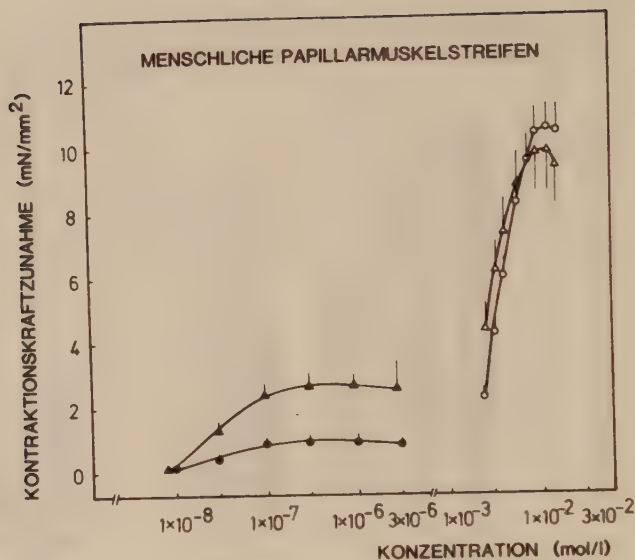


Abb. 8:

Positiv inotrope Wirkung von Bay K 8644 in Myokard von Patienten mit Mitralklappenfehler (▲) sowie terminal insuffizientem Myokard von Herztransplantat-Empfängern (●). Deutlich wird die Abnahme der inotropen Stimulierbarkeit durch Bay K 8644 in terminal insuffizientem Myokard bei erhaltener positiv inotroper Wirkung von Kalzium. Die Konzentrations-Wirkungs-Kurve für Kalzium (Δ : Patienten mit Mitralfehler; ○ : terminal insuffizientes Myokard) wurde erstellt durch Zugabe von CaCl_2 zur maximal wirksamen Konzentration von Bay K 8644 (3×10^{-6} mol/l) ohne vorheriges Auswaschen.

Ausgangskraft: (▲) 4.3 ± 0.7 mN/mm², n = 7

(●) 3.4 ± 0.3 mN/mm², n = 10

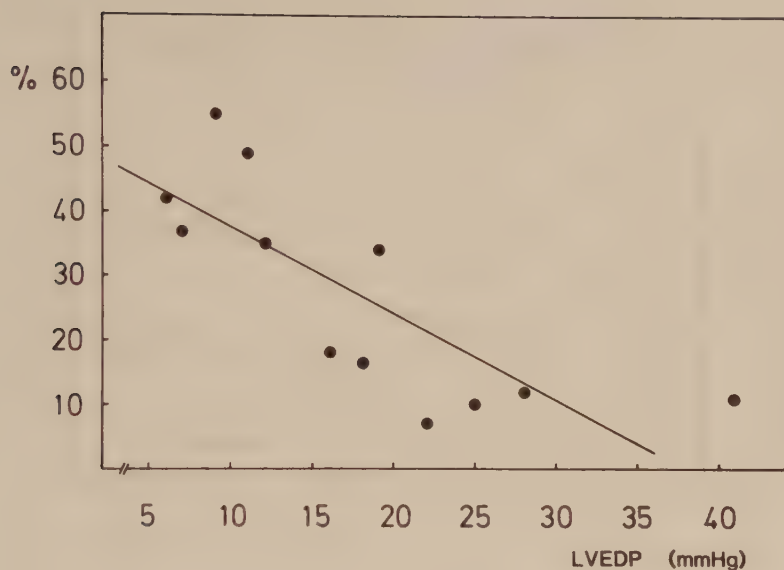


Abb. 9:

Abhängigkeit der positiv inotropen Effektivität von Bay K 8644 in isolierten, menschlichen Papillarmuskelstreifen von der linksventrikulären Funktion des betreffenden Patienten, gemessen am linksventrikulären, enddiastolischen Druck (LVEDP). Die Kontraktionskraftzunahme auf Bay K 8644 ist angegeben in Prozent der maximalen Kontraktionskraftzunahme auf Kalzium im jeweils gleichen Papillarmuskelstreifen.

$n = 12$, $r = -0.77$, $p < 0.01$

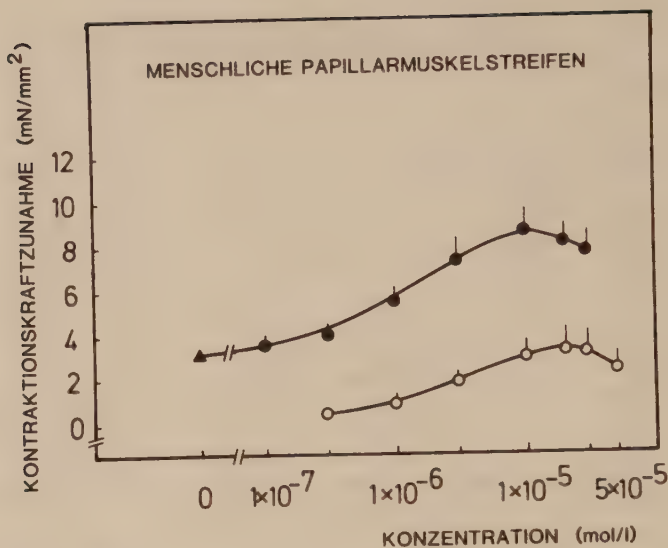


Abb. 10:

Positiv inotroper Effekt von Dobutamin vor (○) und nach Inkubation mit Bay K 8644 (●). Im jeweils selben Muskelstreifen wurde zunächst eine Konzentrations-Wirkungs-Kurve für Dobutamin erstellt, dann Dobutamin wieder ausgewaschen, mit Bay K 8644 (▲ ; 1×10^{-6} mol/l) vorinkubiert und die Konzentrations-Wirkungs-Kurve für Dobutamin wiederholt. Ausgangskraft : 3.6 ± 0.5 mN/mm²; nach Auswaschen der ersten Konzentrations-Wirkungs-Kurve 2.6 ± 0.4 mN/mm²; (n=9).

4. DISKUSSION

4.1. Kontraktile Reserve von isoliertem, terminal insuffizienten, menschlichen Myokard in vitro

Obwohl durch Dobutamin, Histamin oder IBMX in terminal insuffizientem, menschlichen Myokard kaum eine Steigerung der Kontraktionskraft zu erzielen war, besitzt, wie die Zunahme der isometrischen Kraftentwicklung auf Erhöhung der extrazellulären Kalziumkonzentrationen oder durch g-Strophanthin deutlich macht, auch Myokard terminal herzinsuffizienter Patienten, bei denen konventionelle therapeutische Maßnahmen ausgeschöpft waren und deshalb eine Herztransplantation durchgeführt werden mußte, noch ein beträchtliches Potential zur Steigerung der entwickelten isometrischen Kontraktionskraft (Abb. 3).

Während jedoch die positiv inotrope Wirkung von Dobutamin, Histamin und IBMX auf Vermittlung des zellulären c-AMP-Systems angewiesen sind, führt eine Erhöhung der extrazellulären Kalziumkonzentrationen, wahrscheinlich über den sarkolemmalen $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -Austausch, zu einer Erhöhung der intrazellulären, diastolischen Kalziumkonzentration (36) und, aufgrund des erhöhten transsarkolemmalen Kalziumgradienten, zu vermehrtem systolischen Kalziumeinstrom (83). Damit kommt es direkt zu einer Erhöhung des Anstiegs der intrazellulären, freien Kalziumkonzentration während der Systole, die für den Grad der Aktivierung der kontraktile Filamente verantwortlich ist (71,89). Wenngleich intrazelluläre Kalziumspeicher wie das sarkoplasmatische Retikulum noch in diese Prozesse miteinbezogen sind (81), bedarf die Steigerung der Kontraktionskraft auf diesem Weg wahrscheinlich

nicht vermittelnder zellulärer Regulationsmechanismen wie intrazellulärer c-AMP-Akkumulation (34), die unter pathologischen Bedingungen in ihrer Funktionstüchtigkeit möglicherweise eingeschränkt sind (12, 75). Eine Erhöhung der freien, intrazellulären Kalziumkonzentration während des systolischen Kalziumanstiegs stellt wahrscheinlich die gemeinsame Endstrecke aller positiv inotropen Mechanismen dar (mit Ausnahme einer Kalzium-sensibilisierenden Wirkung auf die kontraktile Filamente, wie sie als Teilaspekt bei einigen positiv inotropen Pharmaka, z.B. Sulmazol oder Pimobendan, vermutet wird (89)). Eine direkte Steigerung der intrazellulären, freien systolischen Kalziumkonzentration durch Erhöhung der extrazellulären Kalziumkonzentration erlaubt somit eine Bestimmung der Fähigkeit des kontraktile Systems, auf positiv inotrope Stimulation die Kontraktionskraft zu steigern, d.h. der kontraktile Reserve in vitro, und erscheint als positiv inotroper Standard zur Bewertung der Effektivität anderer positiv inotroper Substanzen geeignet. Diese Annahme wird durch folgende experimentelle Befunde gestützt:

(i) Im isolierten, elektrisch stimulierten Papillarmuskel des Meerschweinchens bewirken positiv inotrope Pharmaka mit unterschiedlichem Angriffspunkt - β -adrenerge Substanzen (Isoprenalin, Dobutamin), Histamin, IBMX und Digitalis Glykoside - einen ebensogroßen Kontraktionskraftzuwachs wie eine Erhöhung der extrazellulären Kalziumkonzentration (Abb. 2).

(ii) Gleichzeitige Anwendung zweier positiv inotroper Pharmaka erhöht die Kontraktionskraft nicht über diesen Wert hinaus (17).

(iii) In isoliertem, menschlichen Myokard von Patienten mit eingeschränkter Herzfunktion bewirken Digitalis Glykoside und Kalzium ebenfalls eine gleich große Zunahme der Kontrak-

tionskraft. Eine Kombination anderer inotroper Pharmaka (β -adrenerge Substanzen oder Hemmstoffe der Phosphodiesterase) mit g-Strophanthin hat keine größere positiv inotrope Effektivität als g-Strophanthin oder Kalzium alleine (18,20).

Somit scheint der maximale positiv inotrope Effekt einer Erhöhung des extrazellulären Kalziums zumindest näherungsweise die maximal mögliche Kraftentwicklung des jeweiligen Papillarmuskelstreifens widerzuspiegeln. Die Relevanz dieses Modells für die Bedingungen in vivo belegt die kasuistische Beobachtung, daß auch bei einem Patienten mit terminaler, katecholamin-refraktärer Herzinsuffizienz die positiv inotrope Wirkung einer Erhöhung der extrazellulären Kalziumkonzentration (Plasma-Kalzium-Spiegel) weitgehend erhalten war (44). Darüberhinaus erlaubt der Vergleich der durch eine bestimmte positiv inotrope Substanz bewirkten Kontraktionskraftzunahme mit der maximal durch Kalzium erreichbaren Kraftzunahme eine Bewertung, inwieweit die vorhandenen Kraftreserven durch die betreffende Substanz mobilisiert werden können, und damit Rückschlüsse auf die funktionelle Integrität der an der positiv inotropen Wirkung beteiligten zellulären Mechanismen.

Ob der Papillarmuskel ein repräsentatives Modell für Veränderungen des übrigen Myokards im Rahmen der Herzinsuffizienz darstellt, ist insbesondere für menschliches Myokard schwer zu beweisen; jedoch wurden in tierischen Insuffizienzmodellen im Papillarmuskel grundsätzlich vergleichbare Veränderungen hinsichtlich β -Adrenozeptor, Adenylat-Zyklase-Aktivität und Katecholamin-stimulierter Kraftentwicklung beobachtet wie im übrigen Myokard (8).

4.2. Reduzierte Effektivität c-AMP-abhängiger inotroper Stimulation in terminal insuffizientem, menschlichen Myokard

Katecholamine haben unter physiologischen Bedingungen eine starke positiv inotrope Wirkung (13). So bewirkten im Myokard gesunder Labortiere sowohl Stimulation von β -adrenergen- (Isoproterenol, Dobutamin) oder H_2 -Rezeptoren (Histamin) als auch Hemmung der Phosphodiesterase (IBMX) einen maximalen positiv inotropen Effekt, der dem durch g-Strophanthin oder Erhöhung der extrazellulären Kalziumkonzentration vergleichbar war. Die Zunahme der Kontraktionskraft auf Dobutamin, Histamin und IBMX in isoliertem, menschlichen Myokard herzinsuffizienter Patienten war jedoch deutlich vermindert. Diese Reduktion hatte für diese drei Substanzen ein etwa vergleichbares Ausmaß; in Papillarmuskelstreifen von Patienten, die sich einer Mitralklappenersatzoperation unterziehen mußten, bewirkten sie durchschnittlich 35-50 % des durch Kalzium erreichbaren Kontraktionskraftzuwachses (18,20), während in terminal insuffizientem Myokard von Herztransplantatempfängern ihre positiv inotrope Wirkung nahezu vollständig verloren war (Abb. 3,4,6,7). Die erhaltene positiv inotrope Wirkung von g-Strophanthin oder Kalzium (Abb. 3,4,7) zeigt, daß diese reduzierte positiv inotrope Ansprechbarkeit auf eine Abnahme der maximal erreichbaren Kontraktionskraft, also den grundsätzlichen Verlust der Fähigkeit, Kontraktionskraft zu entwickeln, nicht zurückzuführen ist. Nur ein Bruchteil der eigentlich vorhandenen kontraktile Reserven kann somit in insuffizientem Myokardgewebe selbst durch maximale Stimulation von β -Adrenozeptoren, H_2 -Rezeptoren oder Hemmung der Phosphodiesterase aktiviert werden, wobei dieser Anteil mit

zunehmender Insuffizienz abnimmt (Abb. 6a,6b,7).

Eine reduzierte Empfindlichkeit auf therapeutisch verabreichte Katecholamine im Rahmen der Herzinsuffizienz wurde auch in klinischen Untersuchungen beobachtet (9,28), ebenso eine Abnahme der inotropen Wirksamkeit bei längerfristiger Katecholamin-Therapie (27,109). Schließlich zeigten Bristow et al. (12) in isoliertem Myokard von Patienten, die ein Herztransplantat erhielten, gegenüber einer nicht herzinsuffizienten Kontrollgruppe (nicht transplantierte Spenderherzen) eine Abnahme der maximalen Isoproterenol-stimulierten Kontraktionskraft um 54-73 % bei 45-prozentiger Abnahme der Isoproterenol-stimulierten Adenylat-Zyklase-Aktivität, die der gleichzeitig um ebenfalls 50 - 56 % verminderten Dichte der myokardialen β -Adrenozeptoren zugeschrieben wurde. Eine Abnahme von myokardialer β -Adrenozeptordichte und Isoproterenol-stimulierter Adenylate-Zyklase-Aktivität beobachteten auch Baumann et al. (8) bei Patienten mit Mitralklappenfehlern. Brodde et al. (15) korrelierten in menschlichem Vorhofmyokard ebenfalls β -Adrenozeptor-Dichte und Isoproterenol-stimulierte Kontraktionskraftzunahme.

Eine selektive Verminderung der Dichte der myokardialen β -Adrenozeptoren ist aber als Erklärung der hier vorliegenden Befunde mit Unterempfindlichkeit gegenüber c-AMP-abhängigen, positiv inotropen Substanzen mit unterschiedlichem Angriffspunkt nicht ausreichend, sodaß offenbar auch andere Komponenten des Inotropie-gekoppelten, myokardialen c-AMP-Systems von Veränderungen im Rahmen der Herzinsuffizienz betroffen sind. Dies begründet sich wie folgt:

(i) der positiv inotrope Effekt von Histamin, das in menschlichem Ventrikelmyokard die Adenylat-Zyklase über H_2 -Re-

zeptoren stimuliert (35), ist mit zunehmendem Schweregrad der Herzinsuffizienz ebenso reduziert wie der β -Adrenozeptor-vermittelte Effekt von Dobutamin. Eine Abnahme der Dichte der myokardialen H_2 -Rezeptoren im Rahmen der Herzinsuffizienz liegt jedoch nach bisherigen Befunden nicht vor (8). Da außerdem eine therapeutische Gabe von H_2 -Rezeptor-Antagonisten (z.B. Cimetidin) keine negativ inotropen Effekte zur Folge zu haben scheint (9), und bis heute noch kein endogener Ligand gefunden wurde, der den H_2 -Rezeptor zur Induktion eines positiv inotropen Effekts bei Herzinsuffizienz nutzen würde (9), ist eine Agonist-induzierte Abnahme der H_2 -Rezeptoren unwahrscheinlich. Daher müssen als Ursache für die reduzierte Stimulierbarkeit durch Histamin Veränderungen jenseits der Ligand-Rezeptor-Interaktion in Betracht gezogen werden.

(ii) Die inotrope Wirksamkeit einer Hemmung der Phosphodiesterase durch IBMX, welche über eine Reduzierung des c-AMP-Abbaus zu einer intrazellulären c-AMP-Akkumulation führt (89,91), nimmt ebenfalls mit zunehmender Herzinsuffizienz ab; in terminal insuffizientem Myokard besitzt IBMX nahezu keinen positiv inotropen Effekt mehr (Abb. 3), auch nicht in Konzentrationen, die die Phosphodiesterase-Aktivität in Ventrikelmyokard fast vollständig hemmen (91).

(iii) Durch die potenzierende Wirkung von IBMX auf Histamin-induzierte positive Inotropie erzeugen Histamin und IBMX zusammen einen vergleichbaren maximalen Kraftzuwachs wie Kalzium (Abb. 5). Dies zeigt, daß die inotrope Antwort auf Histamin nicht durch einen verminderten Umfang der cAMP-abhängigen, positiv inotropen Mechanismen begrenzt ist; zum anderen belegt es die Wirksamkeit von IBMX als Hemmstoff der Phosphodiesterase auch in terminal insuffizientem Myokard.

(iv) db-c-AMP, ein membrangängiges, bei extrazellulärer Applikation wirksames c-AMP-Analog, das wahrscheinlich in der Aktivierung c-AMP-abhängiger zellulärer, positiv inotroper Mechanismen endogenes c-AMP zu substituieren vermag (69,74) und daher unabhängig von sarkolemmalen Rezeptoren wirkt, induziert eine Kraftzunahme vergleichbaren Umfangs wie Kalzium (Abb. 3,4). Ebenso wie die durch IBMX potenzierte Kraftzunahme auf Histamin bedeutet dies, daß die zellulären Mechanismen, die die c-AMP-abhängigen positiv inotropen Prozesse vermitteln, auch in terminal insuffizientem Myokard in ihrem Umfang offenbar nicht eingeschränkt sind und eine Aktivierung der Kontraktionskraft im selben Ausmaß erlauben wie eine Erhöhung der extrazellulären Kalziumkonzentration.

4.3. Mögliche Veränderungen des Inotropie-gekoppelten c-AMP-Systems in insuffizientem, menschlichen Myokard

Da isolierte Änderungen der β -Adrenozeptoren die weitere funktionelle Integrität des Adenylat-Zyklase-Systems wahrscheinlich nicht beeinträchtigen (94,99,100), ist die Abnahme der positiv inotropen Effekte von H_2 -Rezeptor-Stimulation und Hemmung der Phosphodiesterase durch IBMX durch Veränderungen der β -Adrenozeptoren hinsichtlich Dichte oder Kopplungsprozessen allein nicht zu erklären. Da andererseits die positiv inotrope Antwort auf das c-AMP-Analog db-c-AMP im Vergleich zu Kalzium offenbar nicht eingeschränkt ist (Abb. 3,4; (68)), ist an ehesten eine gestörte Funktion der an der Regulation des intrazellulären c-AMP-Spiegels beteiligten Prozesse, nämlich c-AMP-Synthese oder c-AMP-Abbau oder beides (7,100), für die beobachtete Abnahme der positiv

inotropen Stimulierbarkeit von terminal insuffizientem Myokard verantwortlich.

Eine Zunahme der Aktivität der Phosphodiesterase mit gesteigertem c-AMP-Abbau, wie sie in einigen Zellen nach chronischer Katecholamin-Exposition beobachtet wurde, könnte ebenfalls eine verminderte Katecholaminsensitivität nach sich ziehen (5,106). Die parallele Abnahme von β -Adrenoceptor und H_2 -Rezeptor vermittelter positiv inotroper Wirkung könnte somit auch durch eine erhöhte zelluläre Phosphodiesterase-Aktivität erklärt werden; der mit zunehmender Herzinsuffizienz progrediente Verlust des positiv inotropen Effekts einer Hemmung des zellulären c-AMP-Abbaus durch IBMX, selbst bei Anwendung von Konzentrationen, die die Phosphodiesterase-Aktivität in Ventrikelhomogenaten nahezu vollständig hemmen (91), ist dadurch aber nicht erklärbar.

Es müssen daher andere Ursachen in Betracht gezogen werden.

Da unter den Bedingungen einer nahezu vollständigen Hemmung der zellulären Phosphodiesterase-Aktivität die intrazellulären c-AMP-Spiegel nahezu ausschließlich von der Rate der c-AMP-Synthese bestimmt werden (7), hängt die Effektivität des Mechanismus, über eine Hemmung des c-AMP-Abbaus eine intrazelluläre c-AMP-Akkumulation mit Aktivierung positiv inotroper Prozesse zu erzielen, in erster Linie von einer ausreichenden basalen c-AMP-Syntheserate ab. Eine andere mögliche Ursache für eine unzureichende c-AMP-Akkumulation unter Hemmung der Phosphodiesterase durch IBMX, die Existenz einer durch IBMX nicht hemmbaren zellulären c-AMP-abbauenden Aktivität kann gegenwärtig zwar nicht ausgeschlossen werden, wurde aber bislang in Myokardgewebe nicht berichtet. Somit ist eine veränderte Aktivität der Adenylat-Zyklase mit ver-

minderter basaler c-AMP-Syntheserate am ehesten als Ursache des mangelnden inotropen Effekts von IBMX anzusehen.

Die basale c-AMP-Syntheserate, d.h., die basale Aktivität der Adenylat-Zyklase, hängt von Faktoren ab, die bislang zumindest teilweise ungeklärt sind. Abgesehen von Substratbereitstellung (ATP) und Ionenmilieu (insbesondere Mg^{2+}) lassen sich jedoch - unvollständigerweise - folgende Einflußgrößen angeben (59,63): (i) Anzahl der katalytischen Untereinheiten und deren Aktivitätszustand, der wesentlich von (ii) Anzahl, Lokalisation und Aktivität der Guanin-Nukleotid-bindenden Proteine (N_s und N_i) bestimmt wird. Von Einflüssen seitens der (Ligand-freien) Rezeptoren ist die basale Adenylat-Zyklase-Aktivität jedoch wahrscheinlich weitgehend unabhängig (94,99). Allerdings ist die Regulation der katalytischen Aktivität der Adenylat-Zyklase gegenwärtig noch nicht ausreichend geklärt; die bestehenden unterschiedlichen Modellvorstellungen (siehe Einleitung) erschweren eine Präzisierung der für die reduzierte Basalaktivität verantwortlichen Prozesse (59,63).

Angesichts des Fehlens einer Abnahme der H_2 -Rezeptorendichte im Rahmen der Herzinsuffizienz (8) spricht die Verminderung der positiv inotropen Wirkung von Histamin ebenfalls für eine Störung auf Post-Rezeptorebene, d. h. auf eine Beteiligung von N_s , der katalytischen Untereinheit der Adenylat-Zyklase oder von beiden. Damit spielen offenbar sowohl bei der Verminderung der inotropen Antwort auf Histamin als auch auf IBMX (basale c-AMP-Syntheserate) einheitlich allgemeine Komponenten der Adenylat-Zyklase (N_s , katalytische Untereinheit oder beide) eine entscheidende Rolle, sodaß neben der Abnahme der β -Adrenozeptoren-Dichte weitere Veränderungen im

Adenylat-Zyklase-System terminal insuffizienten Myokards vorhanden zu sein scheinen, die zu einer gestörten Signalübertragung auf Post-Rezeptorebene und einer verminderten basalen c-AMP-Syntheserate führen.

Um den Anteil der katalytischen Untereinheit der Adenylat-Zyklase an der beobachteten Verminderung der inotropen Stimulierbarkeit erfassen zu können, wurde die positiv inotrope Wirksamkeit von Forskolin, welches rezeptorunabhängig eine direkte Aktivierung der katalytischen Untereinheit bewirkt (30,70), in terminal insuffizientem Myokard untersucht. Die intrazelluläre c-AMP-Akkumulation auf Forskolin war offenbar ausreichend, um eine positiv inotrope Wirkung gleichen Umfangs herbeizuführen wie db-c-AMP oder Kalzium (Abb. 3,4). Allerdings besitzt Forskolin eine sehr hohe stimulatorische Effektivität und bewirkt eine wesentlich stärkere Aktivierung der Adenylat-Zyklase als rezeptorabhängige Mechanismen (59,87), sodaß Veränderungen der katalytischen Einheit unter Stimulation mit Forskolin unter Umständen nicht unbedingt Inotropie-limitierend wirksam werden. Darüberhinaus ist die Wirkung von Forskolin wahrscheinlich nicht unabhängig von Einflüssen der Guanin-Nukleotid-bindenden Proteine N_s und N_i (30), sodaß Forskolin möglicherweise eine selektive Beurteilung der katalytischen Untereinheit in einer derartigen pharmakologischen Untersuchung nicht erlaubt.

4.4. Mögliche Ursachen der verminderten Ansprechbarkeit insuffizienten, menschlichen Myokards auf positiv inotrope Stimulation

Eine sichere pathogenetische Zuordnung der reduzierten Ansprechbarkeit auf Katecholamine im Rahmen der Herzinsuffizienz zu einem spezifischen pathophysiologischen Geschehen ist bislang nicht gelungen (11,99). Darüberhinaus muß durchaus keine einheitliche Genese zugrunde liegen (11, 99), sodaß verschiedene Prozesse als Ursache in Betracht gezogen werden müssen. Eine Vielzahl von Befunden deutet darauf hin, daß das insuffiziente Herz hohen Konzentrationen von Noradrenalin ausgesetzt ist, möglicherweise aufgrund kompensatorischer Aktivierung des sympathischen Nervensystems (46,62) zur Unterstützung der beeinträchtigten Pumpfunktion (13,42,75). Herzinsuffiziente Patienten haben erhöhte basale Plasmaspiegel an Noradrenalin mit der Tendenz zu höheren Werten bei zunehmenden Schweregraden (40,41,61, 62,105). Darüberhinaus führt therapeutische Gabe von β -Adrenozeptor-Blockern vielfach zu einer Verschlechterung der Herzleistung (51,104).

Kontinuierliche Katecholaminexposition der β -Adrenozeptoren provoziert jedoch Mechanismen, die zu einer Unterempfindlichkeit der Zelle gegen die anhaltende Stimulation führen. Daß dies auch für das menschliche Herz zutrifft, wurde zuerst von Thomas und Marks (105) aufgrund der Korrelation von Grad der Herzinsuffizienz, Plasma-Noradrenalin-Spiegel und Verminderung der β -Adrenozeptor-stimulierten c-AMP-Akkumulation in Lymphozyten dieser Patienten vermutet. Ein weiterer Hinweis auf Desensitivierungsprozesse in menschlichem Myokard, der progrediente Verlust der inotropen Wirkung von

therapeutisch zugeführten Katecholaminen mit zunehmendem Herzversagen und Dauer der Applikation, wurde klinisch vielfach beobachtet (27,109), ebenso eine inverse Korrelation von Plasmanoradrenalin und inotroper Wirksamkeit von Dobutamin (28).

Desensitivierungsprozesse der Adenylat-Zyklase auf prolongierte Katecholaminexposition sind in einer Vielzahl von experimentellen Modellen beobachtet worden, sowohl in Agonist-spezifischer Form, bei der die sich entwickelnde Subsensitivität nur den jeweils zur Stimulation benutzten Rezeptor betrifft ("homologous desensitization"), als auch in Agonist-non-spezifischer Form, bei der Katecholaminexposition auch die Signalübertragung anderer Adenylat-Zyklase gekoppelter Rezeptoren beeinträchtigt und somit die allgemeinen Komponenten (N_s und katalytische Einheit) der Adenylat-Zyklase in die Desensitivierungsprozesse miteinbezogen sind ("heterologous desensitization"; (94)).

Katecholaminexposition führt in tierexperimentellen Modellen neben Myokardhypertrophie ebenfalls zu einer Abnahme der Kontraktionskraftzunahme auf Katecholamin-Stimulation *in vitro* (24,29,58,107). Über eine Abnahme der Dichte der β -Adrenozeptoren hinaus wurde in diesen Studien aber auch eine veränderte Aktivität von N_s und/oder katalytischer Untereinheit der Adenylat-Zyklase gefunden, sodaß die Desensitivierungsprozesse sich offenbar auch auf allgemeine Komponenten der Adenylat-Zyklase erstreckten und damit möglicherweise Ähnlichkeit zu heterologen Desensitivierungsprozessen bestehen könnte (24). Mit derartigen heterologen Desensitivierungsprozessen scheinen auch die Ergebnisse der vorliegenden pharmakologischen Untersuchungen in insuffi-

zientem, menschlichen Myokard vereinbar zu sein.

Sehr für eine grundsätzliche Beteiligung Katecholamin-induzierter Desensitivierungsprozesse in menschlichem Myokard spricht, daß chronische β -Adrenozeptor-Blockierung die Ausbildung einer Katecholamin-Unterempfindlichkeit - wenigstens zu einem gewissen Grad - zu verhindern vermag: die Zunahme der Kontraktionskraft in isolierten Papillarmuskelstreifen eines solchen Patienten war wesentlich größer als bei Patienten mit vergleichbarer linksventrikulärer Funktion (Abb. 6a). Gestützt wird diese Beobachtung von tierexperimentellen Befunden, die ebenfalls eine Steigerung β -Adrenozeptor vermittelter myokardialer Effekte nach chronischer β -Adrenozeptor-Blockade zeigten (1). Auch in menschlichen Lymphozyten führt chronische Verabreichung von β -Adrenozeptor-Antagonisten zu einem Anstieg der β -Adrenozeptordichte (2).

Allerdings treten Veränderungen des Adenylat-Zyklase-Systems in tierexperimentellen Modellen von Herzhypertrophie oder -insuffizienz nicht nur unter exogener Katecholamin-Stimulation auf. In anderen Hypertrophie-Modellen zeigten sich ebenfalls Veränderungen der β -Adrenozeptordichte (spontan hypertensive Ratte, 55) und der Aktivität allgemeiner Komponenten der Adenylat-Zyklase (N_s und katalytische Einheit; Ratte mit renaler Hypertonie, 55). Darüberhinaus wurde eine Abnahme der inotropen Effektivität von Katecholaminen in experimenteller Myokardhypertrophie ohne gleichzeitig bestehende Erhöhung der Plasma-Noradrenalin-Spiegel beobachtet (76). Ebenso scheinen ischämische Zustände (31) und Alterungsprozesse (38,59) grundsätzlich ähnliche Veränderungen der allgemeinen Komponenten der Adenylat-Zyklase bewir-

ken zu können. Somit scheint das Auftreten einer Katecholamin-Subsensitivität nicht zwingend an eine gesteigerte Katecholamin-Exposition gebunden zu sein. Aufgrund tier-experimenteller Untersuchungen erscheint jedenfalls keine zwingende kausale Zuordnung der Katecholamin-Subsensitivität möglich. Da jedoch in der vorliegenden Untersuchung eine Abhängigkeit der Effektivität positiv inotroper Stimulation vom Alter des jeweiligen Patienten nicht beobachtet werden konnte, müssen insbesondere Herzinsuffizienz-bedingte Prozesse als Ursache für die beobachtete, verminderte positiv inotrope Stimulierbarkeit in Betracht gezogen werden.

Ein Defekt im Adenylat-Zyklase-System könnte aber auch primär für die Entwicklung einer Herzinsuffizienz verantwortlich sein. Das β -Adrenozeptor Adenylat-Zyklase-System vermittelt die aktivierende Wirkung des sympathischen Nervensystems, dem physiologischerweise wahrscheinlich wichtigsten inotropen Stimulus zur Anpassung der Kontraktilität der Herzens an gesteigerte Erfordernisse des Kreislaufs; eine Beeinträchtigung dieses Mechanismus könnte sekundär der Entwicklung einer Herzinsuffizienz Vorschub leisten (11,99). Im Zustand der terminalen Herzinsuffizienz ist eine Unterscheidung, ob ein bestimmter Befund eine Folgeerscheinung darstellt oder die Ursache, unter Umständen nicht mehr möglich (60,99).

Bedeutung für die reduzierte Ansprechbarkeit β -Adrenozeptor-vermittelter positiver Inotropie im Rahmen der Herzinsuffizienz könnten nach jüngsten Ergebnissen auch Einwirkungen haben, die über inhibitorische Rezeptoren unter Einbeziehung des inhibitorischen Guanin-Nukleotid-bindenden Proteins auf die Adenylat-Zyklase übertragen werden. Eine zentrale Rolle

scheint dabei Adenosin zu spielen (52,78). Adenosin, das bereits physiologischerweise vom Myokard produziert wird (98), wird bei verschiedenen pathophysiologischen Zuständen in vermehrtem Maße freigesetzt (98,111). Wie kürzlich berichtet wurde, ist offenbar auch im Rahmen der Herzinsuffizienz die myokardiale Adenosinfreisetzung erhöht (77). Adenosin besitzt aber andererseits in ventrikulärem Myokard antiadrenerge Eigenschaften (33,92), die möglicherweise durch rezeptorvermittelte Aktivierung des inhibitorischen Guanin-Nukleotid-bindenden Proteins (N_i) mit Hemmung der stimulierten Adenylat-Zyklase zustande kommen (32). Von besonderer Bedeutung ist in diesem Zusammenhang, daß, wie in isolierten Meerschweinchenherzen gezeigt werden konnte, Perfusion mit Adenosin offenbar zu einer über das Ende der Adenosinperfusion hinaus persistierenden Verminderung der Stimulierbarkeit von Kontraktionskraft und Adenylat-Zyklase-Aktivität durch Isoproterenol führt (78). Ein derartiger, Adenosin-abhängiger Mechanismus könnte in insuffizientem, menschlichen Myokard ebenfalls die beobachteten Unterempfindlichkeiten auf positive inotrope Stimulation herbeiführen (33,77,113).

4.5. Mögliche pathophysiologische Auswirkungen der inotropen Katecholamin-Subsensitivität insuffizienten Myokards

Der weitgehende Verlust der positiv inotropen Stimulierbarkeit durch Katecholamine im Rahmen der Herzinsuffizienz bei erhaltener positiv inotroper Wirkung von Kalzium zeigt die eingeschränkte Mobilisierbarkeit vorhandener kontraktiler Reserven durch das physiologische System der Anpassung der Kontraktionskraft an die Erfordernisse des Kreislaufs, die

β -Adrenozeptor-vermittelte Stimulation der myokardialen Kontraktilität, als zentralen Defekt im Rahmen der Herzinsuffizienz auf. Eine effektive Anpassung der Pumpleistung an die Erfordernisse des Kreislaufs scheint dadurch behindert, was zumindest teilweise für die persistierende Aktivierung des sympathischen Nervensystems verantwortlich sein könnte. Darüberhinaus mag der klinisch vordergründige Mangel an körperlicher Belastbarkeit herzinsuffizienter Patienten unter anderem Ausdruck einer solchen Beeinträchtigung adrenerger Anpassungsmechanismen sein.

Eine kontinuierlich hohe Katecholaminexposition des Myokards hat möglicherweise zusätzliche negative Auswirkungen im pathogenetischen Geschehen der Herzinsuffizienz. So zeigen verschiedene Untersuchungen zellschädigende Wirkungen erhöhter Katecholamin-Konzentrationen (65,86). Die beobachtete Verschlechterung der Prognose herzinsuffizienter Patienten mit steigenden Plasmanoradrenalin-Spiegeln legt ebenfalls einen derartigen Zusammenhang nahe (25,26). Eine Reduzierung der Exposition des β -Adrenozeptors gegen kontinuierlich erhöhte basale Katecholaminspiegel (z.B. Gabe von β -Adrenozeptor-Antagonisten) könnte eine Katecholamin-bedingte inotrope Subsensitivität möglicherweise zumindest teilweise beseitigen (2) und eine verbesserte Ausschöpfbarkeit vorhandener kontraktiler Reserven in kardiovaskulären Belastungssituationen mit weiter gesteigerter Aktivierung des sympathischen Nervensystems ermöglichen (13). Ob eine langfristige Verabreichung von β -Adrenozeptor-Antagonisten wirklich einen günstigen Einfluß auf Symptomatik oder Verlauf der Herzinsuffizienz hat, ist gegenwärtig noch umstritten und Gegenstand klinischer Untersuchungen (13,51,102,103,104).

Möglicherweise erlaubt aber andererseits die Anwendung von Forskolin oder db-c-AMP eine effektive, therapeutisch nutzbare inotrope Stimulation insuffizienten Myokards, da ihre Wirksamkeit unter Katecholamin-bedingten Desensitivierungsprozessen offenbar nicht eingeschränkt ist. Klinische Studien in dieser Richtung sind derzeit im Gange (64,66,73).

4.6. Reduzierte positiv inotrope Wirksamkeit des Kalzium-Kanal-Aktivators Bay K 8644 in insuffizientem, menschlichen Myokard

Neben Myofilamenten (Veränderung der Kalziumsensitivität) und sarkoplasmatischem Retikulum (gesteigerter Kalziumtransport) ist der sarkolemmale, spannungsabhängige Kalziumkanal dritter Angriffspunkt c-AMP-abhängiger positiv inotroper Mechanismen (Abb. 1; (84,89)). Die Aktivierung dieses Kalziumkanals stellt einen wesentlichen Faktor in der positiv inotropen Wirkung intrazellulärer c-AMP-Akkumulation dar (84,89,108). Die kürzliche Entdeckung von Dihydropyridin-Substanzen mit direkter, c-AMP-unabhängiger (37,57), aktivierender Wirkung auf den Kalziumkanal (zB. Bay K 8644, CGP 28 392 (80,93)) hat seine direkte, selektive pharmakologische Beeinflußbarkeit und somit die Untersuchung seiner funktionellen Bedeutung im Myokard möglich gemacht. Im Gegensatz zu den bekannten Kalziumantagonisten (wie Verapamil und Nifedipin), deren hemmender Einfluß auf den Kalziumeinstrom eine negativ inotrope Wirkung mit sich bringt (39), steigern diese Substanzen die Kontraktionskraft (Abb. 2,8; (93)). Während jedoch die maximale Zunahme der Kontraktionskraft im rechtsventrikulären Papillarmuskel des gesunden Meerschweinchens einen vergleichbaren Umfang hat

wie die durch Erhöhung des extrazellulären Kalziums, nimmt der maximale, durch Bay K 8644 erzielbare, positiv inotrope Effekt in menschlichen Papillarmuskelstreifen mit zunehmender Beeinträchtigung der Herzfunktion ab (Abb. 9). So ließ sich in isolierten Papillarmuskelstreifen von Patienten, die sich einem Mitralklappenersatz unterziehen mußten, im Vergleich zu Kalzium durchschnittlich nur noch eine Kontraktionskraftzunahme von ca. 32% erreichen; in terminal insuffizientem Myokard bewirkte Bay K 8644 lediglich noch eine vergleichsweise minimale Zunahme der Kraftentwicklung (13 %), während die positiv inotrope Wirkung von Kalzium erhalten war (Abb. 8).

Speziesbedingte Unterschiede in der inotropen Wirksamkeit von Bay K 8644 in Meerschweinchen und Mensch lassen sich, da "normales" menschliches Myokard nicht zur Verfügung steht, gegenwärtig nicht ausschließen. Jedoch spricht insbesondere die Korrelation der Abnahme der positiv inotropen Effektivität von Bay K 8644 mit zunehmendem Schweregrad der Herzinsuffizienz (gemessen am linksventrikulären, enddiastolischen Druck und der linksventrikulären Auswurf fraktion), für Herzinsuffizienz-bedingte Veränderungen (Abb. 9). Somit scheint menschliches Myokard im Rahmen der Herzinsuffizienz auch eine verminderte Ansprechbarkeit auf die pharmakologische Aktivierung der sarkolemmalen Kalziumkanäle durch Bay K 8644 zu entwickeln.

Da sich die durch maximal effektive Konzentrationen von Bay K 8644 erreichbare Kontraktionskraftzunahme durch Dobutamin, dessen positiv inotrope Wirkung auch wesentlich von der - wenngleich c-AMP-induzierten - Zunahme des transsarkolemmalen Kalziumeinstroms abhängt (84), weiter steigern ließ,

ist möglicherweise nicht die Kapazität des transsarkommembranalen Kalziumeinstroms der limitierende Faktor in der positiv inotropen Wirkung von Bay K 8644. Daher könnten in erster Linie solche Strukturen des Kalziumkanal-Systems betroffen sein, die im Wirkungsmechanismus von Bay K 8644 eine Rolle spielen. Für eine genaue Analyse dieser Phänomene ist aber eine direkte Untersuchung von Kalziumkanal und transsarkommembranalem Kalziumeinstrom unerlässlich.

4.7. Inotrope Katecholamin-Unterempfindlichkeit und reduzierte inotrope Wirksamkeit von Bay K 8644 in insuffizientem menschlichen Myokard: Pathophysiologisch gekoppelte Prozesse ?

Da die biochemischen, physiologischen und pharmakologischen Eigenschaften des sarkommembranalen Kalziumkanals erst in jüngerer Zeit durch die Entwicklung spezifischer Modulatoren und Liganden einer Untersuchung zugänglich wurden (39,45, 93), ist bislang wenig über physiologische und pathophysiologische Regulationsmechanismen des Kalziumkanals bekannt. Aufgrund der Parallelität der Abnahme der positiv inotropen Stimulierbarkeit menschlichen Myokards durch c-AMP-abhängige Mechanismen und Bay K 8644 mit zunehmendem Schweregrad der Herzinsuffizienz erscheint es jedoch von großer Bedeutung, ob und inwieweit Adenylat-Zyklase-System und Kalziumkanal in zellulären Adaptationsmechanismen voneinander abhängig sind. Einige Untersuchungen deuten auf Wechselwirkungen beider Systeme im Rahmen von Regulationsmechanismen hin, so Veränderungen der Kalziumkanäle nach längerfristiger Vorbehandlung mit Katecholaminen oder β -Adrenozeptor-Antagonisten oder durch Reserpingabe (79,88). Altersabhängige Veränderun-

gen des Kalziumkanals wurden jedoch ebenso beobachtet (56) wie Veränderungen im Rahmen des pathophysiologischen Geschehens der Kardiomyopathie des Syrischen Hamsters (110). Daher muß zum gegenwärtigen Zeitpunkt offen bleiben, ob und wenn ja, wie die verminderte inotrope Stimulierbarkeit durch Katecholamine mit der reduzierten Antwort auf den Kalzium-Kanal-Aktivator Bay K 8644 in terminal insuffizientem Myokard in Zusammenhang steht.

Möglicherweise haben aber auch Prozesse im Rahmen der Herzinsuffizienz auf beide Systeme unabhängig voneinander verändernden Einfluß, oder primäre Defekte in einem der beiden Systeme spielen eine ursächliche Rolle in der Genese der Herzinsuffizienz mit regulativen Folgeveränderungen des anderen. Eine pathogenetische Unterscheidbarkeit ist unter Umständen aufgrund der Veränderungen im Endzustand eines solchen pathologischen Geschehens nicht mehr gegeben (60,99).

4.8. Sind Tiermodelle zur Beurteilung der Wirksamkeit positiv inotroper Substanzen im Patienten mit Herzinsuffizienz geeignet?

Die unterschiedliche Effektivität positiv inotroper Stimulation in gesundem Myokard von Versuchstieren und insuffizientem menschlichen Myokard macht die Problematik der Beurteilung positiv inotroper Substanzen in tierexperimentellen Modellen deutlich. Dabei müssen zunächst speziesbedingte Unterschiede berücksichtigt werden, wie sie z.B. für Digitalisempfindlichkeit (16) und für die Stimulation myokardialer α -Adrenozeptoren (89) und β -Adrenozeptoren berichtet wurden.

So findet sich in ventrikulärem Katzenmyokard eine große β -Adrenozeptor Reservekapazität (54), während in menschlichen Ventrikelmuskulatur eine solche nicht vorzuliegen scheint (13). Allerdings spielen nicht nur speziebedingte Unterschiede eine Rolle, sondern es kommt, wie die vorliegende Untersuchung zeigt, auch im Rahmen der Herzinsuffizienz selbst zu Veränderungen der inotropen Ansprechbarkeit des Muskels. Dies konnte sowohl in tierexperimentellen Untersuchungen (55,75,107) als auch in menschlichem Muskel gezeigt werden (siehe auch (12,115)). Aber auch Tiermodelle der Herzhypertrophie oder -insuffizienz können nur begrenzt als adäquates Vergleichsobjekt für insuffizientes, menschliches Muskel herangezogen werden. Solche Modelle sind diesem meist nur in einzelnen Aspekten vergleichbar und erlauben jeweils nur die Behandlung spezieller Fragestellungen, was eine Vielzahl experimenteller Modelle hervorgebracht hat (z.B. akutes oder chronisches Herzversagen, Druck- oder Volumenbelastung, Infarkt- und Kardiomyopathiemodelle; (59,95)). Die Komplexität der Reaktionen und Veränderungen des menschlichen Gesamtorganismus und des Muskels im Rahmen der Herzinsuffizienz sind in Tiermodellen nur unzureichend nachvollziehbar (95).

Die Suche nach geeigneten positiv inotropen Substanzen zur Therapie der Herzinsuffizienz kann sich daher nur bedingt auf die Effektivität dieser Substanzen in gesundem Muskel von Labortieren oder tierexperimentell erzeugter Muskelinsuffizienz stützen, die die Verhältnisse insuffizienten, menschlichen Muskels stets nur ungenügend zu repräsentieren vermögen, sondern muß vor allem auch die Wirksamkeit am pathologisch veränderten, insuffizienten menschlichen Muskel selbst berücksichtigen.

5. ZUSAMMENFASSUNG

Wesentliches Kennzeichen der kongestiven Herzinsuffizienz ist die Abnahme der Kontraktilität des Myokards. Die entwickelte Kontraktionskraft ist von zellulären Mechanismen abhängig, in denen Kalzium eine zentrale Rolle spielt. Von entscheidender Bedeutung ist dabei wahrscheinlich der systolische Kalziueinstrom, der über sarkolemmale Kalziumkanäle erfolgt. Diese unterliegen der Kontrolle des zellulären c-AMP-Systems, das die Wirkung der Katecholamine vermittelt. Im Rahmen der Herzinsuffizienz ist die positiv inotrope Wirksamkeit der Katecholamine jedoch eingeschränkt. In isoliertem Myokard herzinsuffizienter Patienten sowie gesunder Meerschweinchen wurde deshalb die Effektivität rezeptorabhängiger (Dobutamin, Histamin) und rezeptorunabhängiger positiv inotroper Substanzen (IBMX, Forskolin, db-c-AMP) mit Einfluß auf das zelluläre c-AMP-System untersucht, und ihre Effektivität der c-AMP-unabhängig wirkender Substanzen (g-Strophanthin, Kalzium, Bay K 8644) gegenübergestellt.

Die wesentlichen Ergebnisse sind: im gesunden Myokard des Meerschweinchens ist die positiv inotrope Effektivität aller untersuchten Substanzen nahezu gleich groß und entspricht der von Kalzium. Im Myokard von Patienten mit Mitralvitien ist die Kontraktionskraftzunahme durch Dobutamin, Histamin und IBMX mit zunehmender Herzinsuffizienz reduziert und in terminal insuffizientem Myokard von Herztransplant-Empfängern fast vollständig verloren, während die positiv inotrope Wirkung von g-Strophanthin und Kalzium erhalten ist. Da auch der positiv inotrope Effekt von db-cAMP, einem extrazellulär angewandt wirksamen c-AMP-Analog, sowie von Forskolin,

einem direkten Aktivator der Adenylat-Zyklase, dem von Kalzium vergleichbar ist, ist der Umfang der c-AMP-abhängigen positiv inotropen, zellulären Mechanismen offenbar nicht eingeschränkt. Die parallele Abnahme der Effektivität der rezeptorvermittelten Wirkungen von Dobutamin und Histamin sowie der Verlust der inotropen Wirkung einer Hemmung der Phosphodiesterase macht eine Störung des Adenylat-Zyklase-Systems wahrscheinlich, die mit Beeinträchtigung der Signalübertragung auf Post-Rezeptorebene und verminderter basaler c-AMP-Syntheserate einhergeht. Ein, wie bisher angenommener, isolierter Defekt des myokardialen β -Adrenozeptor ist daher als Erklärung nicht ausreichend; vielmehr müssen zusätzliche Veränderungen allgemeiner Komponenten der Adenylat-Zyklase (stimulatorisches Guanin-Nukleotid-bindendes Protein, katalytische Untereinheit oder beide) angenommen werden.

Auch die positiv inotrope Wirksamkeit von Bay K 8644, das den sarkolemmalen Kalziumkanal direkt aktiviert und in gesunden Meerschweinchenmyokard ebenfalls eine mit Kalzium vergleichbare Effektivität besitzt, nimmt mit zunehmendem Grad der Herzinsuffizienz ab, sodaß dieses System bei terminaler Herzinsuffizienz ebenfalls von Veränderungen im Sinne eines Wirkungsverlusts pharmakologischer Stimulation betroffen zu sein scheint.

Die pathophysiologischen Ursachen der Abnahme der inotropen Katecholaminwirkung in insuffizientem, menschlichen Myokard sind bislang nur unzureichend bekannt. Ihre Korrelation mit steigenden Plasma-Noradrenalin-Spiegeln, - Zeichen einer Aktivierung des sympathischen Nervensystems -, legt Desensitivierungsprozesse infolge kontinuierlicher Katecholaminexposition nahe; möglicherweise spielt aber auch Adenosin,

das in ventrikulärem Myokard antiadrenerge Eigenschaften besitzt und bei Herzinsuffizienz vermehrt freigesetzt wird, eine wesentliche Rolle.

Wie die erhaltene Zunahme der Kontraktionskraft auf Kalzium deutlich macht, besitzt auch terminal insuffizientes, menschliches Myokard eine beträchtliche kontraktile Reserve; diese kann jedoch durch Katecholamin-Stimulation nur noch in stark reduziertem Umfang verfügbar gemacht werden. Somit erscheint die eingeschränkte Mobilisierbarkeit vorhandener kontraktiler Reserven durch das sympathische Nervensystem, dem physiologischen Stimulator der myokardialen Kontraktilität zur Aufrechterhaltung einer den Kreislaufverhältnissen adäquaten Pumpfunktion, als ein zentraler Defekt im Rahmen der Herzinsuffizienz.

6. LITERATURVERZEICHNIS

1. Aarons, R.D., Molinoff, P.B.:
Changes in the density of beta adrenergic receptors in rat lymphocytes, heart and lung after chronic treatment with propranolol.
J. Pharmacol. Exp. Ther. 221, 439-443 (1982)
2. Aarons, R.D., Nies, A.S., Gal, J., Hegstrand, L.R., Molinoff, P.B.:
Elevation of β -adrenergic receptor density in human lymphocytes after propranolol administration.
J. Clin. Invest. 65, 949-957 (1980)
3. Akera, T., Brody, T.M.:
The role of $(\text{Na}^+ + \text{K}^+)$ -ATPase in the inotropic action of digitalis.
Pharmacol. Rev. 29, 187-220 (1977)
4. Alpert, N.R., Gordon, M.S.:
Myofibrillar adenosine triphosphatase activity in congestive heart failure.
Am. J. Physiol. 202, 940-946 (1962)
5. d'Armiento, M., Johnson, G.S., Pastan, I.:
Regulation of adenosine 3':5'-monophosphate phosphodiesterase activity in fibroblasts by intracellular concentrations of cyclic adenosine monophosphate.
Proc. Nat. Acad. Sci. 69, 459 (1972)
6. Aronson, R.S.:
Characteristics of action potentials of hypertrophied myocardium from rats with renal hypertension.
Circ. Res. 47, 443-454 (1980)
7. Barber, R., Clark, R.B., Kelly, L.A., Butcher, R.W.:
A model of desensitization in intact cells.
Advances in Cyclic Nucleotide Research 9, 507-516 (1978)
8. Baumann, G., Mercader, D., Busch, U., Felix, S.B., Loher, U., Ludwig, L., Sebening, H., Heidecke, C.D., Hagl, S., Sebening, F., Blömer, H.:
Effects of the H_2 -receptor agonist impromidine in human myocardium from patients with heart failure due to mitral and aortic valve disease.
J. Cardiovasc. Pharmacol. 5, 618-625 (1983)

9. Baumann, G., Busch, U., Permanetter, B., Wirtzfeld A.:
Vorkommen und Funktion von Histamin-Rezeptoren -
Mögliche Bedeutung einer H₂-Rezeptor-Stimulation bei
der katecholaminrefraktären Myokardinsuffizienz.
In: Schölmerich, P., Holtmeier, H.-J. (Hrsg.): Kardiovas-
kuläre Rezeptoren. Thieme, Stuttgart, 173-187 (1986)
10. Braunwald, E., Ross, J. Jr., Sonnenblick E.H., eds.:
Mechanisms of the normal and the failing heart.
Little, Brown, Boston, 309-56 (1976)
11. Bristow, M.R.:
The adrenergic nervous system in heart failure.
N. Engl. J. Med. 311, 850-851 (1984)
12. Bristow, M.R., Ginsburg, R., Minobe, W., Cubicciotti,
R.S., Sagemann, W.S., Lurie, K., Billingham, M.E.,
Harrison, D.C., Stinson, E.B.:
Decreased catecholamine sensitivity and
B-adrenergic-receptor density in failing human hearts.
N. Engl. J. Med. 307, 205-211 (1982)
13. Bristow, M.R., Kantrowitz, N.E., Ginsburg, R., Fowler,
M.B.:
B-Adrenergic function in heart muscle disease and heart
failure.
J. Mol. Cell. Cardiol. 17 (Suppl. 2), 41-52 (1985)
14. Bristow, M.R., Ginsburg, R.:
Beta₂ receptors on myocardial cells in human
ventricular myocardium.
Am. J. Cardiol. 57, 3F-6F (1986)
15. Brodde, O.-E., Kretsch, R., Ikezono, K., Zerkowski,
H.-R., Reidemeister, J.C.:
Human B-adrenoceptors: Relation of myocardial and
lymphocyte B-adrenoceptor density.
Science 231, 1584-1585 (1986)
16. Brown, L., Erdmann, E.:
Binding of digitalis derivatives to beef, cat and human
cardiac (Na⁺+K⁺)-ATPase. Affinity and kinetic
constants.
Arch. Intern. Pharmacodyn. Therap. 271, 229-240 (1984)
17. Brown, L., Erdmann, E.:
Concentration-response curves of positive inotropic
agents before and after ouabain pretreatment.
Cardiovasc. Res. XIX, 288-298 (1985)

18. Brown, L., Lorenz, B., Erdmann, E.:
Additive and non-additive positive inotropic effects in human and guinea-pig myocardium.
In: Erdmann E, Greeff K, Skou JC, eds.: Cardiac glycosides 1785-1985. Steinkopff Verlag, Darmstadt, 69-78 (1985)
19. Brown, L., Lorenz, B., Erdmann, E.:
Reduced positive inotropic effects in diseased human ventricular myocardium.
Cardiovasc. Res. XX, 516-520 (1986)
20. Brown, L., Näbauer, M., Erdmann, E.:
Additive positive inotropic effects of milrinone, ouabain and calcium in diseased human ventricular myocardium.
Klin. Wschr. 64, 708-712 (1986)
21. Brown, L., Näbauer, M., Erdmann, E.:
Dobutamine: Positive inotropy by nonselective adrenoceptor agonism in isolated guinea pig and human myocardium.
Zur Veröffentlichung eingereicht.
22. Capasso, J.M., Aronson, R.S., Sonnenblick, E.H.:
Reversible alterations in excitation-contraction coupling during myocardial hypertrophy in rat papillary muscle.
Circ. Res. 51, 189-195 (1982)
23. Capasso, J.M., Malhotra, A., Scheuer, J., Sonnenblick, E.H.:
Myocardial biochemical, contractile, and electrical performance after imposition of hypertension in young and old rats.
Circ. Res. 58, 445-460 (1986)
24. Chatelain, P., Robberecht, P., De Neef, P., Camus, J.-C., Christophe, J.:
Early decrease in secretin-, glucagon-, and isoproterenol-stimulated cardiac adenylate cyclase activity in rats treated with isoproterenol.
Biochem. Pharmacol. 31, 347-352 (1982)
25. Cohn, J.N.:
Clinical implications of the hemodynamic effects of beta blockade.
Am. J. Cardiol. 55, 125D-128D (1985)

26. Cohn, J.N., Levine, T.B., Olivari, M.T., Garberg, V., Lura, D., Francis, G.S., Simon, A.B., Rector, T.: Plasma norepinephrine as a guide to prognosis in patients with chronic congestive heart failure. *N. Engl. J. Med.* 311, 819-823 (1984)
27. Colucci, W.S., Alexander, R.W., Williams, G.H., Rude, R.E., Holman, B.L., Konstam, M.A., Wynne, J., Mudge, G.H., Braunwald, E.: Decreased lymphocyte beta-adrenergic-receptor density in patients with heart failure and tolerance to the beta-adrenergic agonist pirbuterol. *N. Engl. J. Med.* 305, 185-190 (1981)
28. Colucci, W.S., Wright R.F., Jaski, B.E., Fifer, M.A., Braunwald, E.: Milrinone and dobutamine in severe heart failure: differing hemodynamic effects and individual patient responsiveness. *Circulation* 73 (Suppl. III), III-175 - III-183 (1986)
29. Corder, D.W., Heyliger, C.E., Beamish, R.E., Dhalla, N.S.: Defect in the adrenergic receptor-adenylate cyclase system during development of catecholamine-induced cardiomyopathy. *Am. Heart J.* 107, 537-542 (1984)
30. Daly, J.W.: Forskolin, adenylylase, and cell physiology: An overview. *Advances in Cyclic Nucleotide and Protein Phosphorylation Research* 17, 81-89 (1984)
31. Devos, C., Robberecht, P., Nokin, P., Waelbroeck, M., Clinet, M., Camus, J.C., Beaufort, P., Schoenfeld, P., Christophe, J.: Uncoupling between beta-adrenoceptors and adenylylase cyclase in dog ischemic myocardium. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 331: 71-75 (1985)
31. Dhalla, N.S., Das, P.K., Sharma, G.P.: Subcellular basis of cardiac contractile failure. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 10, 363-385 (1978)
32. Dobson, J.G.: Mechanism of adenosine inhibition of catecholamine-induced responses in heart *Circ. Res.* 52, 151-160 (1983)

33. Dobson, J.G., Ordway, R.W., Fenton, R.A.:
Endogenous adenosine inhibits catecholamine contractile responses in normoxic hearts.
Am. J. Physiol. 251, H455-H462 (1986)
34. Dönges, C., Heitmann, M., Jungbluth, H., Meinertz, T., Schmelzle, B., Scholz, H.:
Effectiveness of theophylline to increase cyclic AMP levels and force of contraction in electrically paced guinea-pig auricles. Comparison with isoprenaline, calcium and ouabain.
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 301, 87-97 (1977)
35. Eckel, L., Gristwood, R.W., Nawrath, H., Owen, D.A.A., Satter, P.:
Inotropic and electrophysiological effects of histamine on human ventricular heart muscle.
J. Physiol. 330, 111-123 (1982)
36. Eisner, D.A., Orchard, C.H., Allen, D.G.:
Control of intracellular ionized calcium concentration by sarcolemmal and intracellular mechanisms.
J. Mol. Cell. Cardiol. 16, 137-146 (1984)
37. Endoh, M., Yanagisawa, T., Taira, N., Blinks, J.R.:
Effects of new inotropic agents on cyclic nucleotide metabolism and calcium transients in canine ventricular muscle.
Circulation 73 (suppl III): III-117 - III-133 (1986)
38. Feldman, R.D.:
Physiological and molecular correlates of age-related changes in the human β -adrenergic receptor system.
Fed. Proc. 45, 48-50 (1986)
39. Fleckenstein, A.:
Specific pharmacology of calcium in myocardium, cardiac pacemakers, and vascular smooth muscle.
Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol. 17, 149-166 (1977)
40. Francis, G.S.:
Plasma catecholamines in patients with congestive heart failure.
Cardiovasc. Rev. Rep. 6, 444-454 (1984)

41. Francis, G.S., Goldsmith, S.R., Cohn, J.N.:
Relationship of exercise capacity to resting left
ventricular performance and basal plasma norepinephrine
levels in patients with congestive heart failure.
Am. Heart J. 104, 725-731 (1982)
42. Gaffney, T.E., Braunwald, E.:
Importance of the adrenergic nervous system in the
support of circulatory function in patients with
congestive heart failure.
Am. J. Med. 34: 320-324 (1963)
43. Gilman, A.G.:
G protein and dual control of adenylate cyclase.
Cell 36, 577-579 (1984)
44. Ginsburg, R., Esserman, L.J., Bristow, M.R.:
Myocardial performance and extracellular ionized
calcium in a severely failing human heart.
Ann. Int. Med. 98, 603-606 (1983)
45. Glossmann, H., Ferry, D.R., Goll, A., Striessnig, J.,
Zernig, G.:
Calcium channels and calcium channel drugs: Recent
biochemical and biophysical findings.
Arzneim. Forsch. 35, 1917-1935 (1985)
46. Goldstein, D.S., McCarty, R., Polinsky, R.J., Kopin
I.J.:
Relationship between plasma norepinephrine and
sympathetic neural activity.
Hypertension 5, 552-559 (1983)
47. Goldstein, R.S., Skelton, C.L., Levey, G.S., Glancy,
D.L., Beiser, G.D., Epstein, S.E.:
Effects of chronic heart failure on the capacity of
glucagon to enhance contractility and adenylyl cyclase
activity of human papillary muscles.
Circulation XLIV, 638-648 (1971)
48. Golf, S., Anderson, D., Hannson, V.:
Beta adrenoceptor density and adenylate cyclase
response in right atrial and left ventricular
myocardium of patients with mitral valve disease.
Cardiovasc. Res. 20, 331-336 (1986)
49. Gordon, M.S., Brown, A.L.Jr.:
Myofibrillar adenosine triphosphatase activity of human
heart tissue in congestive heart failure: Effect of
ouabain and calcium.
Circ. Res. 18, 534-542 (1966)

50. Hamill, O.P., Marty, A., Neher, E., Sakmann, B., Sigworth, F.J.:
Improved patch-clamp techniques for high resolution current recording from cells and cell-free membrane patches.
Pflügers Arch. 391, 85-100 (1981)
51. Ikram, H., Fitzpatrick, D.:
Double-blind trial of chronic oral beta blockade in congestive heart failure.
Lancet II, 490-492 (1981)
52. Jacquemin, C., Thibout, H., Lambert, B., Correze, C.:
Endogenous ADP-ribosylation of G_s subunit and autonomous regulation of adenylate cyclase.
Nature 323, 182-184 (1986)
53. Johnson, C. L., Mizogucchi, H.:
The interaction of histamine and guanyl-nucleotides with cardiac adenylate cyclase and its relationship to cardiac contractility.
J. Pharmacol. Exp. Ther. 200, 174-186 (1977)
54. Kaumann, A.J.:
On spare B-adrenoceptors for inotropic effects of catecholamines in kitten ventricle.
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 305, 97-102 (1978)
55. Khairallah, P.A., Upsher, M.E., Yoshida, K., Fouad, F.A., Hanna, M.K.:
Excitation-contraction coupling in hypertrophied myocardium.
J. Cardiovasc. Pharmacol. 7 (Suppl. 6), S13-S19 (1985)
56. Kojima, M., Sperelakis N., Johnson, G., Ehrreich, S., Balazs, T.:
Age dependent changes in electrophysiologic characteristics of fast and slow action potentials in rat papillary muscle.
Can. J. Physiol. Pharmacol. 61, 1509-1515 (1983)
57. Kokubun, S., Reuter, H.:
Dihydropyridine derivatives prolong the open state of Ca channels in cultured cardiac cells.
Proc. Nat. Acad. Sci. 81, 4824-4827 (1984)
58. Kumano, K., Khairallah, P.A.:
Adenylate cyclase activity in rat myocardium following chronic infusion of angiotensin II and epinephrine.
J. Cardiovasc. Pharmacol. 6, 756-761 (1984)

59. Kusiak, J.W., Pitha, J.:
Decreased response with age of the cardiac
catecholamine sensitive adenylate cyclase system.
Life Sci. 33, 1679-1686 (1983)
60. Lefkowitz, R.J., Caron, M.G., Stiles, G.L.:
Mechanisms of membrane-receptor regulation.
N. Engl. J. Med. 310, 1570-1579 (1984)
61. Lehmann, M., Wybitul, K., Kapp, R., Spielberger, B.,
Keul, J.:
Correlation of hemodynamic parameters with plasma
catecholamines in patients with congestive heart
failure.
Clin. Cardiol. 5, 493-499 (1982)
62. Levine, T.B., Francis, G.S., Goldsmith, S.R., Simon,
A.B., Cohn, J.N.:
Activity of the sympathetic nervous system and
renin-angiotensin system assessed by plasma hormone
levels and their relationship to hemodynamic
abnormalities in congestive heart failure.
Am. J. Cardiol. 49, 1659-1666 (1982)
63. Levitzky, A.:
 β -Adrenergic receptors and their mode of coupling to
adenylate cyclase.
Physiol. Rev. 66, 819-854 (1986)
64. Linderer, T., Biamino, G., Brüggemann, T., Peslin, K.,
Schröder, R.:
Hemodynamic effects of forskolin, a new drug with
combined positive inotropic and vasodilating
properties.
J. Am. Coll. Cardiol. 3 (2), 562 (1984)
65. Lown, B., Verrier, R.L.:
Neural activity and ventricular fibrillation.
N. Engl. J. Med. 294, 1165-1170 (1976)
66. Matsui, S., Murakami, E., Takekoshi, N., Emoto, J.,
Matoba, M.:
Hemodynamic effects of dibutyryl cyclic AMP in
congestive heart failure.
Am. J. Cardiol. 51, 1464-1368 (1983)
67. McDonald, T.F.:
The slow inward calcium current in the heart.
Ann Rev Physiol 44:425-34 (1982)

68. Meinertz, T., Nawrath, H., Scholz, H., Winter, K.:
Response of isolated human ventricular myocardium to
cyclic AMP and its dibutyryl derivative.
Klin. Wschr. 52, 701-703 (1974)
69. Meinertz, T., Nawrath, H., Scholz, H., Winter, K.:
Effect of DB-c-AMP on mechanical characteristics of
ventricular and atrial preparations of several mammalian
species.
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 282, 143-153
(1976)
70. Metger, H., Lindner, E.:
The positive inotropic-acting forskolin, a potent
adenylate cyclase activator.
Arzneimittel-Forsch. 28, 84-89 (1981)
71. Morgan, J.P., Chesebro, J.H., Pluth, J.R., Puga, F.J.,
Schaff, H.V.:
Intracellular calcium transients in human working
myocardium as detected with aequorin.
J. Am. Coll. Cardiol. 3, 410-418 (1984)
72. Murad, F., Chi, Y.M., Rall, T.W., Sutherland E.W.:
Adenylate cyclase III. The effect of catecholamines and
choline esters on the formation of adenosine
3',5'-phosphate by preparations from cardiac muscle and
liver.
73. Nair, K.G., Lele, R.D., Kamdas, N.:
Forskolin, a new inotropic agent.
J. Mol. Cell. Cardiol. 18 (Suppl. 3), 50 (1986)
74. Nakazawa, M., Takeda, K., Nakagawa, Y., Tamatsu, H.,
Matsui, K., Nakahara, H., Kimura, T., Kawada, T.,
Imai, S.:
In vivo and in vitro assessment of the cardiovascular
effects of 8-(benzylthio)-N⁶-n-buthyl-cyclic AMP.
J. Cardiovasc. Pharmacol. 7, 862-868 (1985)
75. Newman, W.H.:
Biochemical, structural and mechanical defects of the
failing myocardium.
Pharmacol. Ther. 22, 215-247 (1983)
76. Newman, W.H., Webb, J.G.:
Adaption of left ventricle to chronic pressure
overload: response to inotropic drugs.
Am. J. Physiol. 238, H134-H143 (1980)

77. Newman, W.H., Grossman, S.J., Frankis, M.B., Webb, J.G.:
Increased myocardial adenosine release in heart failure.
J. Mol. Cell. Cardiol. 16, 577-580 (1984)
78. Newman, W.H., Lee, J.T., Eller, T.D., Webb, J.G.:
Persistently depressed inotropic responsiveness to isoproterenol but not to ouabain in hearts chronically exposed to adenosine.
Pflügers Arch. 407 (Suppl. 1), S52 (1986)
79. Powers, R.C., Colucci, W.S.:
An increase in putative voltage dependent calcium channel number following reserpine treatment.
Biochem. Biophys. Res. Comm. 132, 844-849 (1985)
80. Preuss, K.C., Cheung, N.L., Brooks, H.L., Warltier, D.C.:
Cardiovascular effects of the nifedipine analog, CGP 28392, in the conscious dog.
J. Cardiovasc. Pharmacol. 6, 949-953 (1984)
81. Reiter, M., Vierling, W., Seibel, K.:
Where is the origin of the activator calcium in cardiac ventricular contraction?
Basic Res. Cardiol. 79, 1-8 (1984)
82. Remme W.J.:
Congestive heart failure - Pathophysiology and medical treatment.
J. Cardiovasc. Pharmacol. 8 (Suppl.1), S36-S52 (1986)
83. Reuter, H.:
The dependence of slow inward current in Purkinje fibres on the extracellular calcium concentration.
J. Physiol. 192, 479-492 (1967)
84. Reuter, H., Scholz, H.:
The regulation of the calcium conductance of cardiac muscle by adrenaline.
J. Physiol. 264, 49-62 (1977)
85. Rodbell, M.:
The role of hormone receptors and GTP-regulatory proteins in membrane transduction.
Nature 284, 17-22 (1980)
86. Rona, E.:
Catecholamine cardiotoxicity
J. Mol. Cell. Cardiol. 17, 291-306 (1985)

87. Schimmel, R.J.:
Stimulation of cAMP accumulation and lipolysis in hamster adipocytes with forskolin.
Am. J. Physiol. 246, C63-C68 (1984)
88. Schmid, A., Renaud, J.-F., Lazdunski, M.:
Short term and long term effects of β -adrenergic effectors and cyclic AMP on nitrendipine-sensitive voltage-dependent Ca^{2+} channels of skeletal muscle.
J. Biol. Chem. 260, 13041-13046 (1985)
89. Scholz, H.:
Inotropic drugs and their mechanism of action.
J. Am. Coll. Cardiol. 4, 389-397 (1984)
90. Scholz, H.:
Funktionen von α -Adrenozeptoren am Herzen.
In: Schölmerich, P., Holtmeier, H.-J. (Hrsg.): Kardiovaskuläre Rezeptoren. Thieme, Stuttgart, 93-100 (1986)
91. Scholz, H., Meyer, W.:
Phosphodiesterase-inhibiting properties of newer inotropic agents.
Circulation 73 (Suppl. III), III-99 - III-108 (1986)
92. Schrader, J., Baumann, G., Gerlach, E.:
Adenosine as inhibitor of myocardial effects of catecholamines.
Pflügers Arch. 372, 29-35 (1977)
93. Schramm, M., Thomas, G., Towart, R., Franckowiak, G.:
Novel dihydropyridines with positive inotropic action through activation of Ca^{2+} channels.
Nature 303, 535-537 (1983)
94. Sibley, D.R., Lefkowitz, R.J.:
Molecular mechanisms of receptor desensitization using the β -adrenergic receptor-coupled adenylate cyclase system as a model.
Nature 317, 124-129 (1985)
95. Smith, H.J., Nuttall, A.:
Experimental models of heart failure.
Cardiovasc. Res. 19, 181-1186 (1985)
96. Sordahl, L.A., McCollum, W.B., Wood, W.G., Schwartz, A.:
Mitochondria and sarcoplasmic reticulum function in cardiac hypertrophy and failure.
Am. J. Physiol. 224: 497-502 (1973)

97. Spann, J.F., Boccino, R.A., Sonnenblick, E.H., Braunwald, E.:
Contractile state of cardiac muscle obtained from cats with experimentally produced ventricular hypertrophy and heart failure.
Circ. Res. 21, 342-354 (1967)
98. Sparks, H.V., Bardenheuer, H.:
Regulation of adenosine formation by the heart.
Circ. Res. 58, 193-201 (1986)
99. Stiles, G.L., Lefkowitz, R.J.:
Cardiac adrenergic receptors.
Ann. Rev. Med. 35, 149-164 (1984)
100. Su, Y.-F., Harden, K.T., Perkins, J.P.:
Catecholamine-specific desensitization of adenylate cyclase.
J. Biol. Chem. 255, 7410-7419 (1980)
101. Suko, J., Vogel, J.H.K., Chidsey, C.A.:
Intracellular calcium and myocardial contractility III: Reduced calcium uptake and ATPase of the sarcoplasmic reticulum fraction prepared from chronically failing calf hearts.
Circ. Res. 27, 235-247 (1970)
102. Swedberg, K., Waagstein, F., Hjalmarson, A., Wallentin, I.:
Prolongation of survival in congestive cardiomyopathy by beta-receptor blockade.
Lancet I, 1374-1376 (1979)
103. Swedberg, K., Hjalmarson, A., Waagstein, F., Wallentin, I.:
Beneficial effects of long-term beta-blockade in congestive cardiomyopathy.
Br. Heart. J. 44, 117-133 (1980)
104. Taylor, S.H., Silke, B.:
Hemodynamic effects of beta-blockade in ischemic heart failure.
Lancet II, 835-837 (1981)
105. Thomas, J.A., Marks, B.H.:
Plasma Norepinephrine in congestive heart failure.
Am. J. Cardiol. 41, 233-243 (1978)

106. Tse, J., Brackett, N.L., Kuo, J.F.:
Alterations in activities of cyclic nucleotide systems and in β -adrenergic receptor-mediated activation of cyclic AMP-dependent protein kinase during progression and regression of isoproterenol-induced cardiac hypertrophy.
Biochimica Biophysica Acta 542, 399-411 (1978)
107. Tse, J., Powell, J.R., Baste, C.A., Priest, R.E., Kou, J.F.:
Isoproterenol-induced cardiac hypertrophy: Modifications in characteristics of β -adrenergic receptor, adenylate cyclase, and ventricular contraction.
Endocrinology 105, 246-255 (1979)
108. Tsien, R.W.:
Cyclic AMP and contractile activity in heart.
Advances in Cyclic Nucleotide Research 8, 363-420 (1977)
109. Unverferth, D.V., Kates, E.R., Leier, C.V.:
Tolerance to dobutamine after a 72 hour continuous infusion.
Am. J. Med. 69, 262-266 (1980)
110. Wagner, J.A., Reynolds, I.J., Weisman, H.F., Dudeck, P., Weisfeldt, M.L., Snyder, S.H.:
Calcium antagonist receptors in cardiomyopathic hamster: Selective increases in heart, muscle and brain.
Science 232, 515-518 (1986)
111. Watkinson, W.P., Foley, D.H., Rubio, R., Berne, R.M.:
Myocardial adenosine formation with increased cardiac performance in the dog.
Am. J. Physiol. 236, H13-H21 (1979)
112. Weishaar, R.E., Cain, M.H., Bristol, J.A.:
A new generation of phosphodiesterase inhibitors: Multiple molecular forms of phosphodiesterase and potential for drug selectivity.
J. Med. Chem. 28, 537-545 (1985)
113. West, G.A., Isenberg, G., Belardinelli, L.:
Antagonism of forskolin effects by adenosine in isolated hearts and ventricular myocytes.
Am. J. Physiol. 250, H769-H777 (1986)

114. Willerson, J.T.:
What is wrong with the failing heart?
N. Engl. J. Med. 397, 243-245 (1982)
115. Wilmshurst, P.T., Walker, J.M., Fry, C.H., Mounsey,
J.P., Twort, C.H.C., Williams, B.T., Davies, M.J.,
Webb-Peploe, M.M.:
Inotropic and vasodilator effects of amrinone on
isolated human tissue.
Cardiovasc. Res. 18, 302-309 (1984)

7. LEBENSLAUF

Geboren wurde ich am 15. Mai 1957 in München, als 5. Kind des Diplom-Ingenieurs Georg Näbauer und seiner Frau Roswitha, geb. Kößler.

1963 - 1968	Besuch der Volksschule in München
1968	Eintritt in das Maximiliansgymnasium, München
1977	Abitur
1978	Studium der Medizin an der Ludwig-Maximilians-Universität, München
1980	Physikum
1981	1. Teil der Ärztlichen Prüfung
1983	2. Teil der Ärztlichen Prüfung
1984	3. Teil der Ärztlichen Prüfung Approbation
1984-1986	Doktorarbeit an der Medizinischen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität, München, Klinikum Großhadern, Labor Prof. Dr. med. E. Erdmann

DANKSAGUNG

Mein besonderer Dank gilt meinem Doktorvater, Herrn Prof. Dr. med. E. Erdmann, für seine großzügige Unterstützung, die die Durchführung dieser Arbeit erst ermöglicht hat. Sein Interesse und seine anregende Kritik waren mir ein steter Ansporn.

Darüberhinaus bin ich Herrn Prof. Dr. E. Kreuzer, Herrn Prof. Dr. B. Kemkes und Herrn Dr. C. Weinhold, Herzchirurgische Klinik, Klinikum Großhadern, für die Überlassung der Myokardproben besonders zu Dank verpflichtet.

Ich danke Herrn Dr. L. Brown für die gute Zusammenarbeit, die Einführung in die Methodik und die vorbildliche Betreuung während der Durchführung der Experimente.

Ebenso möchte ich Frl. A. Reichl für die engagierte Mitarbeit und Herrn M. Rupff für die Erstellung der Abbildungen danken.

